

**ВЫСШЕЕ**

**ОБРАЗОВАНИЕ**

В. Г. Дрюк, С. И. Скляр,  
В. Г. Карцев

# БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

2-е издание

**УМО ВО**  
РЕКОМЕНДУЕТ

 **юрайт**  
ИЗДАТЕЛЬСТВО

**В. Г. Дрюк, С. И. Склад, В. Г. Карцев**

# БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

**УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ ДЛЯ ВУЗОВ**

**2-е издание, переработанное и дополненное**

*Рекомендовано Учебно-методическим отделом высшего образования в качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений, обучающихся по естественнонаучным направлениям, в том числе по направлениям подготовки бакалавров и специалистов агротехнического профиля: 19.03.02. Продукты питания из растительного сырья, 19.03.03. Продукты питания растительного происхождения, 36.05.01. Ветеринария*

**Книга доступна на образовательной платформе «Юрайт» [urait.ru](http://urait.ru),  
а также в мобильном приложении «Юрайт.Библиотека»**

**Москва • Юрайт • 2021**

УДК 577(075.8)

ББК 28я73

Д78

**Авторы:**

**Дрюк Валерий Григорьевич** — доктор химических наук, профессор;

**Скляр Степан Иванович** — кандидат сельскохозяйственных наук, профессор кафедры земледелия и агрономической химии факультета агрономии, садово-паркового и лесного хозяйства Академии биоресурсов и природопользования Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского;

**Карцев Виктор Георгиевич** — доктор химических наук, профессор.

**Рецензенты:**

**Шольц-Куликов Е. П.** — профессор, доктор технических наук, заслуженный деятель науки и техники Украины, профессор кафедры виноделия и технологии бродильных производств факультета механизации производства и технологии переработки сельхозпродукции Академии биоресурсов и природопользования Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского;

**Макушин Н. М.** — профессор, доктор сельскохозяйственных наук, заведующий лабораторией семеноводства Никитского ботанического сада — Национального научного центра Российской академии наук, член-корреспондент Национальной академии аграрных наук Украины.

**Дрюк, В. Г.**

Д78

Биологическая химия : учебное пособие для вузов / В. Г. Дрюк, С. И. Скляр, В. Г. Карцев. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2021. — 292 с. — (Высшее образование). — Текст : непосредственный.

ISBN 978-5-534-12077-6

В учебном пособии представлены основы биологической химии, раскрывающие сущность организации живых систем и клеток. Дается характеристика таких классов молекул, как витамины, ферменты, углеводы, липиды, белки, нуклеиновые кислоты и др. Описаны процессы окисления, катаболизма и анаболизма, обмена воды и биометаллов в организмах животных.

Каждая глава сопровождается вопросами для самоконтроля.

Соответствует актуальным требованиям Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования.

Для студентов высших образовательных учреждений, обучающихся по естественнонаучным направлениям, аспирантов, преподавателей и всех интересующихся.

УДК 577(075.8)

ББК 28я73

Разыскиваем правообладателей и наследников Карцева В. Г.:

<https://www.urait.ru/inform>

Пожалуйста, обратитесь в Отдел договорной работы: +7 (495) 744-00-12; e-mail: [expert@urait.ru](mailto:expert@urait.ru)

ISBN 978-5-534-12077-6

© Дрюк В. Г., Скляр С. И., Карцев В. Г.,  
2007

© Дрюк В. Г., Скляр С. И., Карцев В. Г.,  
2018, с изменениями

© ООО «Издательство Юрайт», 2021

## Оглавление

<b>Глава 1. Введение .....</b>	<b>7</b>
<b>Глава 2. Общие представления об организации живых систем и клеток .....</b>	<b>9</b>
<i>Вопросы и задания для самоконтроля.....</i>	<i>13</i>
<b>Глава 3. Ферменты, коферменты, гормоны .....</b>	<b>14</b>
3.1. Общая характеристика ферментов.....	14
3.2. Строение ферментов .....	15
3.3. Классификация и номенклатура ферментов .....	16
3.4. Кинетика и механизм действия ферментов .....	18
3.5. Коферменты .....	22
3.6. Гормоны, фитогормоны .....	25
<i>Вопросы и задания для самоконтроля .....</i>	<i>28</i>
<b>Глава 4. Витамины .....</b>	<b>29</b>
4.1. Общая характеристика .....	29
4.2. Водорастворимые витамины .....	30
4.2.1. Витамин С (аскорбиновая кислота, антискорбутный витамин) .....	30
4.2.2. Никотиновая кислота (ниацин, витамин РР, витамин В <sub>5</sub> , антипеллагрический витамин).....	32
4.2.3. Рибофлавин (витамин В <sub>2</sub> ) .....	34
4.2.4. Тиамин (витамин В <sub>1</sub> ) .....	35
4.2.5. Пантотеновая кислота (витамин В <sub>3</sub> ).....	36
4.2.6. Витамин В <sub>12</sub> (противоанемический витамин) .....	37
4.2.7. Фолиевая кислота (витамин В <sub>9</sub> , В <sub>10</sub> , В <sub>11</sub> , птероилглутаминовая кислота) .....	38
4.2.8. Пиридоксин (витамин В <sub>6</sub> , адермин) .....	39
4.2.9. Биотин (витамин Н) .....	40
4.2.10. Инозит .....	41
4.2.11. Витамин В <sub>15</sub> (пангамовая кислота) .....	41
4.2.12. Витамин U (метилметионин) .....	42
4.2.13. Витамин В <sub>13</sub> (оротовая кислота) .....	42
4.3. Жирорастворимые витамины.....	42
4.3.1. Витамин А (ретинол, антиксерофтальмический витамин) ...	42
4.3.2. Витамин D (холекальциферол, антирахитичный витамин) .....	44



4.3.3. Витамин Е (токоферол, антистерильный витамин).	
Антиоксиданты .....	45
4.3.4. Витамин К (филлохинон, антигеморрагический витамин) .....	46
Вопросы и задания для самоконтроля .....	47
<b>Глава 5. Биоэнергетика. Биологическое окисление .....</b>	<b>48</b>
5.1. Общая стратегия энергообеспечения организмов.....	48
5.2. Переносчики химической энергии и некоторые пути их трансформации. Субстратное и окислительное фосфорилирование.....	49
5.3. Анаэробный и аэробный механизм окисления — общая характеристика .....	53
5.4. Цитохромы и их предшественники. Другие конечные оксидазы...	58
5.5. «Прямые» оксидазы .....	61
Вопросы и задания для самоконтроля .....	65
<b>Глава 6. Углеводы — строение, свойства, биологическая роль .....</b>	<b>66</b>
6.1. Наиболее важные представители — строение и свойства .....	66
6.1.1. Моносахариды.....	67
6.1.2. Олигосахариды. Дисахариды.....	74
6.1.3. Полисахариды .....	80
6.2. Обмен углеводов — анаболизм и катаболизм. Брожение и аэробное окисление.....	86
6.2.1. Гликолиз .....	87
6.2.2. Пировиноградная кислота.....	90
6.2.3. Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса) .....	90
6.2.4. Глиоксилатный цикл.....	93
6.2.5. Пентозофосфатное (апотомическое) окисление глюкозы ....	94
6.2.6. Особенности обмена углеводов в организмах животных и человека .....	97
6.2.7. Анаэробный распад (брожение) углеводов (сахаров) .....	101
6.2.8. Фотосинтез.....	105
6.2.9. Взаимопревращения углеводов в растительных организмах.....	110
6.2.10. Хемосинтез .....	113
Вопросы и задания для самоконтроля .....	115
<b>Глава 7. Липиды — химическое строение, свойства и биологическая роль. Катаболизм и анаболизм .....</b>	<b>116</b>
7.1. Нейтральные жиры.....	117
7.2. Фосфолипиды (фосфоглицериды).....	120
7.3. Сфинголипиды.....	121
7.4. Стериды и стерины.....	122
7.5. Воски .....	123
7.6. Обмен липидов .....	124

7.6.1. Биосинтез липидов.....	125
7.6.2. Диссимиляция (катаболизм) жиров.....	129
7.6.3. Особенности обмена липидов в организмах животных.....	132
<i>Вопросы и задания для самоконтроля .....</i>	<i>133</i>
<b>Глава 8. Белки и аминокислоты — строение, свойства и биологическая роль.....</b>	<b>134</b>
8.1. Общая характеристика. Биологическая роль.....	134
8.2. Аминокислоты — строение и свойства.....	136
8.3. Структура и классификация белков .....	142
8.4. Биосинтез и обмен аминокислот в растительных организмах ....	149
8.5. Особенности метаболизма белков и аминокислот в животных организмах .....	156
8.6. Биосинтез белка. Нуклеиновые кислоты.....	159
8.6.1. Нуклеотиды и полимеры на их основе — нуклеиновые кислоты .....	159
8.6.2. Механизм биосинтеза белка.....	166
8.7. Пути видоизменения ДНК: мутации, лизогения, трансдукция, трансформация. Рекомбинация ДНК.....	169
<i>Вопросы и задания для самоконтроля .....</i>	<i>172</i>
<b>Глава 9. Обмен воды и биометаллов в организмах животных</b>	<b>174</b>
9.1. Обмен воды.....	174
9.2. Обмен биометаллов .....	176
<i>Вопросы и задания для самоконтроля .....</i>	<i>183</i>
<b>Глава 10. Химия биологических жидкостей и тканей животных организмов.....</b>	<b>184</b>
10.1. Биохимия крови .....	184
10.1.1. Состав крови.....	184
10.1.2. Некоторые физико-химические свойства крови. Буферная система. Осмотическое давление.....	186
10.1.3. Дыхательная функция крови .....	188
10.2. Биохимия мяса .....	190
10.3. Биохимия молока и продуктов его микробиальной переработки.....	193
10.3.1. Молоко.....	193
10.3.2. Биохимические и физико-химические процессы при производстве кисломолочных продуктов и сыров .....	204
<i>Вопросы и задания для самоконтроля .....</i>	<i>206</i>
<b>Глава 11. Биохимия вина .....</b>	<b>207</b>
11.1. Химический состав винограда и сула .....	207
11.1.1. Углеводы (сахара) .....	208
11.1.2. Азотистые вещества.....	211
11.1.3. Карбоновые кислоты .....	211
11.1.4. Фенольные соединения.....	217

11.1.5. Эфирные масла и сложные эфиры.....	222
11.1.6. Липиды винограда .....	224
11.2. Биохимические процессы на стадии приготовления сусла .....	225
11.3. Дрожжевое брожение виноградного сусла .....	229
11.3.1. Дрожжи.....	229
11.3.2. Биохимия дрожжевого брожения. Энергетика обмена веществ. Вторичные продукты брожения.....	232
11.4. Бактериальные виды брожения.....	240
11.4.1. Молочнокислые бактерии .....	240
11.4.2. Молочнокислое брожение (МКБ).....	241
11.4.3. Яблочно-молочное брожение .....	243
11.4.4. Уксуснокислое брожение (УКБ) .....	244
<i>Вопросы и задания для самоконтроля .....</i>	<i>247</i>
<b>Глава 12. Обмен органических кислот в микроорганизмах и высших растениях.....</b>	<b>248</b>
12.1. Алифатические кислоты .....	248
12.2. Некоторые кислоты ароматического, гидроароматического и алициклического ряда.....	252
<i>Задания для самоконтроля .....</i>	<i>257</i>
<b>Глава 13. Вещества вторичного происхождения в растительных организмах.....</b>	<b>258</b>
13.1. Гликозиды .....	258
13.2. Эфирные масла, смолы, каучук.....	262
13.3. Алкалоиды .....	266
13.4. Регуляторы роста растений. Аллелопатия.....	272
13.5. Фитонциды. Фитотоксины .....	276
13.5.1. Преинфекционные фитонциды .....	280
13.5.2. Постинфекционные вещества: постингибитины и фитоалексины.....	282
13.5.3. Фитотоксины (патотоксины) .....	284
13.6. Антибиотики .....	285
<i>Вопросы и задания для самоконтроля .....</i>	<i>289</i>
<b>Литература .....</b>	<b>290</b>
<b>Новые издания по дисциплине «Биологическая химия» и смежным дисциплинам .....</b>	<b>292</b>

# Глава 1

## ВВЕДЕНИЕ

**Биологическая химия** — это наука о химических основах жизни (от греч. *bios* — жизнь). В более развернутом виде ее следует представить как науку о строении, свойствах и закономерностях химических превращений молекул, входящих в состав и обеспечивающих жизнедеятельность живых организмов, прежде всего, животного и растительного мира.

Можно выделить два раздела биохимии. **Статическая биохимия** изучает химический состав организмов, строение и свойства биомолекул, описываемых с позиций классической химии (органической, неорганической и др.). **Динамическая биохимия** нацелена на изучение закономерностей и механизма химических превращений «молекул жизни» в связи со структурой и физиологическими функциями клеток, органов и организмов в целом.

Настоящий курс написан с учетом того, что студент усвоил основы общей, неорганической и органической химии, сформировал представления о строении и реакционной способности основных функциональных групп органических молекул, являющихся структурными элементами биологических объектов.

Главными «кирпичиками мироздания» живой материи являются белки (в том числе ферменты), углеводы, нуклеиновые кислоты и липиды (жиры). Катаболизм и анаболизм именно этих классов соединений занимает центральное место в биохимии, что нашло отражение в настоящем учебном пособии. Параллельно с рассмотрением метаболизма соединений указанного ряда ставилась задача выявить общие признаки и различия в функционировании животных, растительных и микробных клеток.

Однако прежде, чем приступить к решению этих вопросов, представлялось целесообразным:

- восстановить в памяти в общих чертах сведения об организации живых систем и клеток, на матрицах которых развиваются биохимические феномены;
- уяснить строение и биологическую роль вспомогательных классов соединений: ферментов, коферментов, витаминов и гормонов;
- показать строение носителей биоэнергии и общие закономерности биологического (анаэробного и аэробного) окисления, обеспечивающего жизнеспособность клеток, тканей и органов.

С учетом профессиональной ориентации будущих специалистов агротехнологического профиля, в частности в сфере пищевых технологий, представлялось важным рассмотреть основы химии биологических жидкостей и тканей (крови, мяса, молока и вина), показать закономерности ряда метаболических циклов растительных и одноклеточных организмов: фотосинтеза, хемосинтеза, обмена органических кислот и веществ вторичного происхождения (фитонцидов, регуляторов роста, фитотоксинов и др.).

В результате изучения курса студент должен:

**знать**

- строение, анаболизм и катаболизм основных классов биомолекул: белков, нуклеиновых кислот, липидов, ферментов, углеводов, витаминов и др., входящих в состав сырья, вспомогательных материалов и продуктов питания животного происхождения;

**уметь**

- контролировать биохимические показатели качества сырья, полуфабрикатов, вспомогательных материалов и готовых продуктов растительного и животного происхождения;

**владеть**

- методами биотрансформации свойств растительного сырья на основе знаний в области биохимии;
- навыками проведения анализов с целью контроля биохимических процессов продуктов растительного происхождения.

## Глава 2

# ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВЫХ СИСТЕМ И КЛЕТОК

Биохимические процессы развиваются в биологических системах разной структурной упорядоченности и иерархического соподчинения. Взаимосвязь составных элементов любой системы создает новое качество, неравнозначное их простой сумме.

Жизнь как особая форма движения материи представляется сложной системой уровней организации материи. Отметим те из них, с которыми соприкасается предмет биохимии.

1. **Молекулярный** уровень. Здесь проявляется функционирование биологически активных макромолекул: белков, нуклеиновых кислот, углеводов и др.

2. **Клеточный** уровень охватывает структурно-функциональные особенности клетки как универсальной единицы живого организма.

3. **Тканевый** уровень рассматривает совокупность клеток, объединенных общностью природы и функций.

4. **Органый** уровень отражает функциональное взаимодействие нескольких типов тканей.

5. **Организменный** уровень касается взаимодействия дифференцированных органов в целостной системе.

**Клетка** — это самая простая (элементарная) живая система, способная к саморегуляции и самовоспроизводству.

Организмы делятся на одноклеточные и многоклеточные.

К первым относятся бактерии, простейшие (инфузория, амёба, малярийный плазмодий), множество водорослей (хлорелла, хламидомонада), грибы (дрожжи, мукор и др.). Некоторые из них: бактерии и сине-зеленые водоросли — относятся к безъядерным формам (**прокариотам**). Клетки таких организмов вместо ядра содержат ДНК и РНК, включенные непосредственно в цитоплазму. Другие же организмы состоят из клеток, содержащих ядра, и называются **эукариотами**.

Заметим при этом, что существуют также неклеточные формы живой материи — **вирусы** и **бактериофаги** (фаги). У них нет ни цитоплазмы, ни органелл. Это автономные ДНК или РНК, заключенные в белковую оболочку (капсиду). Вирусы не имеют собственного

механизма обмена веществ. Они внедряются в какую-либо живую клетку и разрушают ее, фактически паразитируя на чужом биологическом материале.

Многоклеточные организмы состоят из ансамблей клеток, образующих ткани, органы и организм в целом.

Существуют такие ткани, как покровная, проводящая, ассимиляционная, арматурная (у растений), эпителиальная, соединительная, мышечная, нервная (у животных).

Количество клеток у примитивных беспозвоночных составляет  $10^2$ — $10^4$ , у высокоорганизованных позвоночных —  $10^{15}$ — $10^{17}$ . В крови человека содержится порядка  $10^{12}$  клеток. Средняя масса клетки  $10^{-8}$ — $10^{-9}$  г, а размеры 10—100 мкм.

Общим признаком различных видов клеток является наличие двух систем, обеспечивающих их жизнедеятельность. Она из них связана с размножением и развитием (редубликация ДНК, синтез РНК и белка). Вторая система ответственна за энергообеспечение процессов биосинтеза веществ и других видов физиологической работы.

Общее содержание химических соединений в клетке показано в табл. 2.1.

Таблица 2.1

Химический состав клетки

Соединение	Содержание, %
Вода	70—80
Белки	10—20
Углеводы	0,2—2,0
Жиры	1—5
Нуклеиновые кислоты	1,0—2,0
АТФ и другие низкомолекулярные органические вещества	0,1—0,5
Минеральные вещества	1,0—1,1

Клетка состоит из плазматической мембраны, цитоплазмы и ядра (рис. 2.1). **Плазматическая мембрана** (толщина — 8—10 нм) снаружи покрыта клеточной оболочкой из целлюлозы или других биоматериалов, что делает клетку сравнительно жесткой. У клеток животных такая дополнительная оболочка чаще всего отсутствует.

Плазматическая мембрана поддерживает внутриклеточный гомеостаз. При этом она избирательно регулирует движение веществ в клетку и выход из нее с помощью специальных переносчиков и ферментов, обеспечивает передачу сигналов и межклеточное взаимодействие.

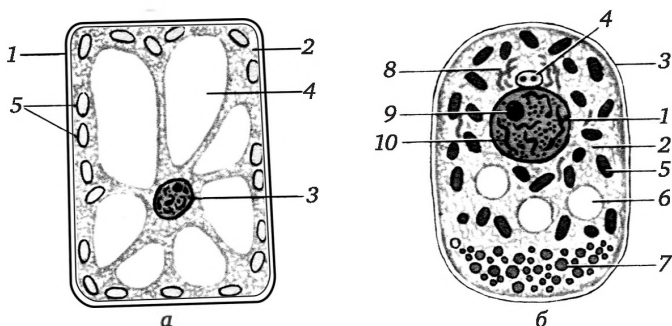


Рис. 2.1. Схемы строения клеток по данным светового микроскопа:

- а* — растительная клетка: 1 — оболочка; 2 — цитоплазма; 3 — ядро;  
4 — вакуоль с вакуолярным соком; 5 — пластиды;  
*б* — животная клетка: 1 — ядро; 2 — цитоплазма; 3 — наружная  
мембрана клетки; 4 — клеточный центр; 5 — митохондрия; 6 — вакуоль;  
7 — включения; 8 — комплекс Гольджи; 9 — ядрышко; 10 — хроматин

Внутреннее содержимое клетки за исключением ядра называется **цитоплазмой**. Цитоплазма — это биологический коллоидный раствор, содержащий 75—85 % воды, 10—12 % белков и аминокислот, 4—6 % углеводов, 2—3 % жиров и липидов, 1 % неорганических и других веществ. Цитоплазма эукариотических организмов неоднородна по строению и включает гиалоплазму, мембранные и немембранные компоненты. К **мембранным** компонентам относятся мембранные органеллы: митохондрии, пластиды, аппарат Гольджи, лизосомы, микротельца, вакуоли растительных клеток. К **немембранным** компонентам относятся центриоли, макромолекулярные комплексы, в частности рибосомы.

В состав клеточных мембран входят белки (до 60 %), липиды (около 40 %). В свою очередь, мембранные белки подразделяются на ферменты, рецепторные белки и структурные белки. Липиды, входящие в состав мембран клетки, представлены в основном глицеролипидами, сфинголипидами, холестерином. Часто в мембранах присутствует фосфатидилхолин (лецитин).

Внутриклеточные мембраны эндоплазматического ретикулума тесно связаны с плазматической мембраной и разделяют клетку на множество отсеков (компарментов), играющих важную роль в регуляции одновременно протекающих ферментативных процессов.

Из органелл (органоидов), включенных в цитоплазму, следует прежде всего отметить **ядро**, обеспечивающее важнейшие метаболические и генетические функции клетки. В ядре содержатся молекулы ДНК, соединенные со специфическими белками-гистонами. Эти нуклеопротеиды образуют набор **хромосом** (кариотип). В ядре осуществляется синтез информационной РНК.



К органеллам клеток эукариотических организмов относятся также **митохондрии**. В митохондриях осуществляются процессы, обеспечивающие клетку энергией. Здесь энергия химических связей питательных веществ (углеводов, жирных кислот, аминокислот) трансформируется в процессе клеточного дыхания в энергию макроэргических связей **аденозинтрифосфата (АТФ)** — своеобразного биологического аккумулятора. Количество митохондрий в клетке достигает 5000.

Тело митохондрии ограничено двойной мембранной оболочкой, внутренняя поверхность которой образует большое количество складок, перегородок, так называемых крист, которые формируют своеобразные отсеки (камеры) и значительно увеличивают площадь поверхности. Между кристами пространство заполняет матрикс — масса, близкая по составу к цитоплазме. В матриксе находится основное количество ферментов. Наличие ДНК и **рибосом** обуславливает определенную генетическую автономность митохондрий.

Функции органоида **аппарата Гольджи** состоят в накоплении, сепарации и удалении за пределы клетки с помощью пузырьков продуктов внутриклеточного синтеза и распада, токсических веществ. В растительных клетках аппарат Гольджи содержит фермент синтеза полисахаридов, в том числе и для построения клеточной оболочки.

**Лизосомы** содержат в своем мукополисахаридном (т. е. гетерополисахаридном) матриксе около 60 гидролитических ферментов (гидролаз), что позволяет этим органеллам расщеплять практически все полимерные органические соединения.

**Пластиды** — самые крупные (после ядра) цитоплазматические органоиды **растительных** клеток. Известно три типа пластид. Наиболее важный тип — **хлоропласты** — «силовые станции» растительных клеток. Содержащиеся в них ферменты, белки, липиды и пигменты ответственны за фотосинтез, ведущий к образованию углеводов и выделению свободного кислорода.

**Лейкопластиды** (бесцветные пластиды) находятся в корневых и клубнях. Они содержат ферменты, синтезирующие крахмал из излишков глюкозы (продукта фотосинтеза).

**Каротиноидопласты** содержат желтые пигменты — каротиноиды. Созревание плодов, в частности шиповника, помидоров, перца, сопровождается превращением хлоро- и лейкопластов клеток мякоти в каротиноидопласты.

**Вакуоль** составляет часть растительных клеток, представляющую собой полость (резервуар) в массе цитоплазмы, заполненную водным раствором минеральных солей, аминокислот, органических кислот, углеводов и других компонентов. Вакуоль обуславливает осмотические свойства клетки, регулирует проникновение в клетку и выделение из нее воды, ионов и молекул метаболитов.

### **Вопросы и задания для самоконтроля**

1. Назовите виды бактерий.
2. Чем вирусы и бактериофаги (фаги) отличаются от бактерий?
3. Какую роль в организации клетки играют плазматическая мембрана, цитоплазма, ядро и митохондрии?

## Глава 3

# ФЕРМЕНТЫ, КОФЕРМЕНТЫ, ГОРМОНЫ

### 3.1. Общая характеристика ферментов

Ферменты (энзимы) — это специфические белковые структуры, которые катализируют биохимические реакции в клетках живого организма. Сами ферменты также синтезируются в клетках.

Во многих случаях фермент не просто катализирует (ускоряет) реакцию, а делает ее возможной, поскольку без участия катализатора эта реакция вообще не осуществима.

Ферментативные процессы коренным образом отличаются от обычных химических реакций. Их скорость в  $10^6$ — $10^{12}$  раз превышает скорость некатализируемых реакций. Протекают они при умеренных температурах (20—60 °C) и нормальном давлении в нейтральных средах (pH 7—7,5).

Молекула фермента после завершения реакции регенерируется и вступает во взаимодействие с новой молекулой субстрата. Число молекул субстрата, превращаемых за 1 мин. на 1 моль фермента (число оборотов), составляет  $10^3$ — $10^6$ .

Ферменты характеризуются высокой **субстратной селективностью** и **специфичностью** в отношении катализируемых ими реакций. То есть фермент катализирует строго определенную реакцию, например гидролиз сложных эфиров, и обслуживает при этом вполне определенный класс соединений (сложные эфиры). Причем в отдельных случаях ферментативному превращению подвергается один-единственный объект.

Высочайшая **стереоселективность** в отношении субстрата проявляется в том, что, например, превращению может подвергаться алкен только *цис*-конфигурации — *транс*-изомер при этом не затрагивается.

В связи с высокой субстратной и стереохимической селективностью ферментов в живой клетке может протекать одновременно множество параллельных и последовательных реакций. Это становится возможным благодаря тому, что ферменты локализованы на мембранах и органеллах в различных компартментах (своего рода «отсеках») клетки.

Ферментативный аппарат клетки работает в режиме максимальной экономии компонентов и энергии с выходом целевых про-

дуктов, близким к количественному (практически без побочных продуктов), и поддерживает клетку в состоянии относительного динамического равновесия. Время жизни клетки, естественно, ограничено и, отмирая, она уступает место новой клетке.

### 3.2. Строение ферментов

Известно более 2000 различных ферментов, из которых порядка 90 % не изучены. Выделены в кристаллическом состоянии или в виде гомогенной массы и охарактеризованы более 200 ферментов.

Молекулярная масса ферментов варьируется в пределах 12 000—1 000 000.

Изученные ферменты подразделяются на **однокомпонентные** и **двухкомпонентные**. При гидролизе первых образуются только аминокислоты, т. е. в их основе лежат простые белки (протеины).

Двухкомпонентные ферменты являются сложными белками, состоящими из белковой компоненты (апофермента) и небелковой части — кофермента, или простетической группы. Весь комплекс называется **холоферментом**:



Кофермент может быть связан с апоферментом ассоциативно и легко отделяться, например при диализе. В других случаях кофермент связывается с белковой частью фермента сравнительно прочно за счет ковалентных связей и может быть отделен только в жестких условиях, например при воздействии денатурирующих (разрушающих структуру белка) факторов. Для ферментативных белков характерна небольшая степень спирализации. Так, в рибонуклеазе спиральную форму имеют 17 % аминокислотных остатков, в то время как в гемоглобине — 75 %. Белки этого типа имеют, как правило, глобулярную форму (рис. 3.1). Степень асимметрии глобулы выражают отношением длинной оси ( $b$ ) и короткой ( $a$ ). Чаще всего соотношение  $b/a$  варьируется в пределах от 3 до 60.

В клетках и тканях функционируют сложные комплексы различных ферментов, именуемые мультиферментными, или полифункциональными комплексами. Они образуются в результате ассоциации нескольких субъединиц, формируя четвертичную структуру белка.

Например, мультиферментный комплекс пируватдегидрогеназы бактерии *E. coli* ( $M = 4\,000\,000$ ) состоит из трех типов ферментов, а пируваткиназа, выделенная из мышцы кролика ( $M = 230\,000$ ), включает в себе 4 субъединицы. В свою очередь, каждая субъединица может состоять из множества полипептидных цепей.

Образование достаточно устойчивых структур ферментов предъявляет определенные требования к пространственной совместимости (комплементарности) субъединиц. Однако для многих ферментов, особенно для регуляторных, характерна способность к саморегуляции с дифференциацией функций в пределах одной и той же упорядоченной структуры.

Существуют также генетически детерминированные формы одного и того же фермента со сходной субстратной специфичностью, которые называются **изоферментами**. Они могут отличаться по аминокислотному составу и некоторым физико-химическим свойствам (в частности, по электрофоретической подвижности, кинетическим параметрам катализируемых реакций и др.).

### 3.3. Классификация и номенклатура ферментов

Классификация и номенклатура ферментов основывается на природе химических превращений.

Выделяют следующие шесть главных классов ферментов.

1. **Оксидоредуктазы** — катализируют окислительно-восстановительные реакции.

2. **Трансферазы** — контролируют реакции межмолекулярного переноса групп атомов.

3. **Гидролазы** — обеспечивают реакции гидролитического расщепления химических связей.

4. **Лиазы** — катализируют реакции негидролитического расщепления, присоединения групп по двойной связи и обратные реакции отщепления таких групп.

5. **Изомеразы** — контролируют реакции изомеризации.

6. **Лигазы (синтетазы)** — катализируют реакции соединения двух молекул, сопряженные с расщеплением связей P–O в молекулах АТФ или нуклеозидтрифосфата.

Классы разделяются на подклассы. Так, оксидоредуктазы классифицируются по природе окисляемой группы в субстрате (спиртовой C–OH, альдегидной CHO, аминогруппы C–NH<sub>2</sub> и др.)

Трансферазы классифицируются согласно транспортируемых групп атомов (ацильных, азот-, фосфор-, серосодержащих групп и т. д.).

Гидролазы подразделяются по типу гидролизуемых связей (эфирных, пептидных, амидных и др.).

Лиазы идентифицируются по природе подвергающихся разрыву связей (C–O-лиазы, C–N-лиазы, C–C-лиазы и др.).

Изомеразы различают по типу реакции изомеризации (*цис-/транс-изомеризация*, *рацемизация* и др.), а лигазы — по природе вновь образующихся связей.

В свою очередь, каждый подкласс делится на подподклассы, названия которых детализируют природу ферментативной реакции. Например, для гидролаз подподклассы определяются по типу гидролизуемой связи (гидролаза эфиров карбоновых кислот, гидролаза тиоловых эфиров и т. д.). У лиаз подподклассы уточняют природу разрываемой связи (например, у C-C-лиаз различают карбоксилиазы, альдегидлиазы и т. д.).

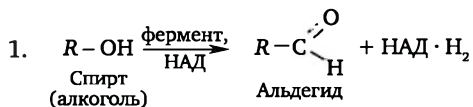
Комиссия по ферментам (КФ) международного биохимического союза предложила систематическую номенклатуру, согласно которой каждому ферменту присваивается шифр (индекс) по четырехзначному десятичному коду. Первая цифра индекса указывает класс, вторая — подкласс, третья — подподкласс, а четвертая — порядковый номер фермента в пределах подкласса.

Наряду с систематической номенклатурой в повседневной практике используются краткие тривиальные названия ферментов. Такие названия дают некоторую информацию о природе субстрата, характере катализируемой реакции и имеют окончание «-аза». Если в качестве субстрата выступает анион кислоты, в названии фермента он указывается с окончанием «-ат» (ацетат, пируват, малат и т. д.).

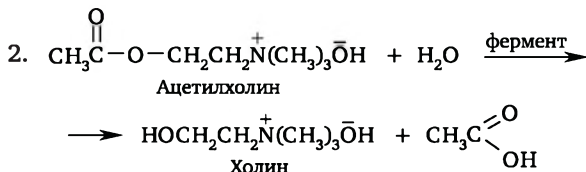
Краткие названия некоторых распространенных групп ферментов и их функции (отмечены в скобках) формулируются следующим образом.

1. **Дегидрогеназы** (дегидрирование субстратов).
2. **Оксидазы** (окисление субстратов кислородом).
3. **Гидроксилазы** (введение группы OH с помощью O<sub>2</sub>).
4. **Оксигеназы** (включение молекулы кислорода при расщеплении C-C-связи).
5. **Киназы** (перенос фосфатной группы на субстрат от АТФ).
6. **Трансферазы** (перенос определенных групп). Так, трансацетилаза переносит ацетильный радикал, транскарбоксилаза переносит карбоксильную группу и т. д.

Покажем названия ферментов на примерах следующих реакций.



Шифр фермента — КФ 1.1.1.1. Систематическое название — алкоголь: НАД-оксидоредуктаза. Тривиальное название — алкоголь-дегидрогеназа.



Реакцию катализирует фермент КФ 3.1.1.7. Систематическое название — ацетилхолингидролаза. Тривиальное название — ацетилхолинэстераза.

### 3.4. Кинетика и механизм действия ферментов

Ферментативная система работает по принципу «замок-ключ» (к замку подходит только ключ со строго определенной конфигурацией). Геометрические параметры белкового окружения реакционного центра фермента таковы, что в эту нишу укладывается молекула субстрата со строго определенным пространственным строением (матричный эффект) (рис. 3.1).

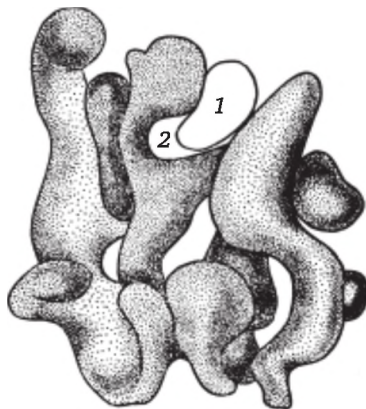


Рис. 3.1. Модель молекулы фермента лизоцима, составленная на основе рентгеноструктурного анализа:  
1 — молекула субстрата; 2 — щель (ниша активного центра)

Действие ферментов проявляется при строго определенном значении pH (pH-оптимуме). В некоторых реакциях водородные или гидроксильные ионы принимают непосредственное участие, в частности в окислительно-восстановительных и в реакциях гидролитического расщепления.

**Ферментативный катализ** включает в себе элементы всех известных химикам типов катализа: электрофильного, основного, кислотно-основного (бифункционального), нуклеофильного, гетерогенного, мицеллярного.

Взаимодействие субстрата с активным центром (активной зоной) фермента включает в себе несколько стадий:

- а) сближение и ориентация;
- б) поляризация и активирование молекулы субстрата с образованием переходного состояния (эффект «дыбы»), сопровождае-

мые изменением конформации всего фермент-субстратного комплекса;

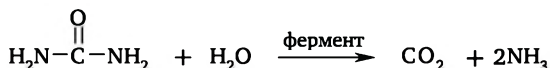
в) регенерация фермента, связанная с диссоциацией комплекса «фермент — продукт».

**Активность** ферментов определяется рядом факторов: наличием активаторов и ингибиторов, концентрацией метаболитов, температурным, водным, кислородным, газовым, световым и другими режимами.

Регуляция ферментативной активности осуществляется нервной и гормональной системами, в частности с помощью специальных регуляторных центров, называемых **аллостерическими**, где в качестве лигандов-регуляторов выступают как обычные метаболиты, так и специальные соединения.

Ферментативные реакции реализуются в строго определенном интервале температуры. Например, нашедший применение в пищевой промышленности фермент  $\alpha$ -амилаза, выделенный из плесневого гриба *A. spengillus oryzae* (1,4- $\alpha$ -D-глюканглюконогидролаза; К.Ф. 3.2.1.1) работает в интервале 50—55 °C, в то время как эта же амилаза, полученная из проросшего зерна, расщепляет крахмал до декстринов при оптимальной температуре 60 °C.

В отличие от обычных химических катализаторов ферменты, как уже отмечалось, обладают высокой **субстратной специфичностью**, т. е. «обслуживают» они определенный класс соединений и вполне определенную реакцию. Причем в некоторых случаях проявляется **абсолютная специфичность**. Например, фермент уреазы (мочевина-амидогидролаза; К.Ф. 3.5.1.5) расщепляет единственное соединение — мочевину, не затрагивая даже производные мочевины (метилмочевину).



Другие ферменты могут действовать на ряд близких по структуре субстратов, т. е. на определенный тип связи (**абсолютная групповая специфичность**).

Например, фермент мальтаза ( $\alpha$ -D-глюкозид-глюкогидролаза; К.Ф. 3.2.1.20) гидролизует в пищеварительном тракте млекопитающих не только мальтозу, но и другие субстраты, имеющие  $\alpha$ -гликозидную связь.

Известна также **относительная групповая специфичность**. Так, липазы и эстеразы расщепляют не только триацилглицеролы (жиры), но и диацилглицеролы, моноацилглицеролы, другие сложные эфиры. А пептидазы расщепляют пептидные связи в различных полипептидах и белках.

Особое значение имеет **стереохимическая специфичность** ферментов. Например, фумарат-гидратаза (L-малат-гидролиаза) ката-



лизирует превращение только фумарата, имеющего, как известно, *транс*-конфигурацию. Хотя существуют и ферменты, действующие как на *цис*-, так и *транс*-изомеры.

Вариантом стереохимической специфичности является **оптическая специфичность** — фермент активен по отношению только к одной из форм субстрата — *D*- или *L*-конфигурации,  $\alpha$ - или  $\beta$ -аномеру. Примером может служить действие ферментов дрожжевой клетки. Спиртовому брожению подвергается только  $\alpha$ -*D*-глюкоза, а не соответствующий  $\beta$ -аномер. Если субстрат является рацемической смесью, то превращению будет избирательно подвергаться только  $\alpha$ -форма.

Известны ферменты, вызывающие инверсию при центрах асимметрии, — **рацемазы** (если в молекуле один асимметрический атом) и **эпимеразы** (если в молекуле несколько центров асимметрии).

Исследование структуры и механизма действия ферментов — важнейшая задача биохимиков. Одним из методов решения таких задач является изучение кинетики ферментативных процессов. При этом исследуется зависимость скорости реакции от природы реагентов (субстрата и фермента), их концентрации, температуры, pH среды, действия различных добавок (активаторов, ингибиторов) и др. Скорость  $v$  ферментативной реакции определяется количеством вещества  $m$ , прореагировавшего в единицу времени  $t$ :

$$v = -\frac{dm}{dt}.$$

Изменение концентрации во времени выражается графически кинетическими кривыми, которые позволяют вычислять начальные скорости, константы скорости, энергии активации и другие параметры реакции. Константа скорости — это скорость реакции при концентрациях реагентов, равных единице. Обычно пользуются молярной концентрацией субстратов. Однако если в субстрате происходит превращение не одной, а нескольких связей, то его концентрацию выражают числом молей, умноженным на число затронутых связей в молекуле.

Количество ферментов выражают в условных «ферментных единицах». За единицу ( $E$ ) любого фермента принимают то его количество, которое катализирует превращение 1 микромоля субстрата в минуту при заданных условиях. За меру скорости реакции или активности фермента принимается не общее число превращенных молекул субстрата (белка, полисахарида), а число расщепленных пептидных или гликозидных связей.

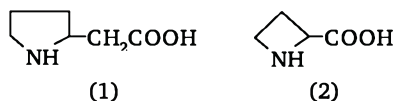
Исследование ферментов проводится при стандартных условиях:  $t = 30^\circ\text{C}$ , pH и концентрация реагентов — оптимальные.

Концентрация раствора ферментов выражается в единицах активности на 1 мл раствора. Удельная активность препарата фермента измеряется числом единиц на 1 мг белка.

В 1972 г. комиссия по биохимической номенклатуре предложила для выражения каталитической активности ферментов новую единицу — **катал** (сокращенно — *кат*). Катал — это каталитическая активность, обеспечивающая протекание реакции со скоростью 1 моль/с в заданной системе измерения активности. На практике активность выражают чаще всего в микрокаталах (*мккат*), нанокаталах (*нкат*) или пикокаталах (*пкат*). При этом скорости реакций выражаются соответственно в микромолях, наномолях и пикомолях в секунду. Старая ферментная единица  $E = 16,67$  нкат. Молекулярная активность фермента (препарата) выражается в каталах на моль фермента, а удельная каталитическая активность — в каталах на килограмм.

Активность фермента можно снизить или вообще свести на нет с помощью ингибиторов. Теоретический и практический интерес представляют природа и механизм действия ингибиторов.

Известна также способность ферментов «ошибаться» и ассимилировать чужеродные вещества (**антиметаболиты**), сходные по структуре с субстратом. В этих случаях естественный ход ферментативных процессов нарушаются и образуются аномальные продукты. Классическим примером такого антиметаболизма является замещение *p*-аминобензойной кислоты стрептоцидом и другими сульфамидными препаратами в цикле биосинтеза фолиевой кислоты (см. подп. 4.2.7), необходимой для жизнедеятельности некоторых патогенных болезнетворных микроорганизмов (бактерий). Подобным образом на некоторые естественные биоциклы влияет замена карбоксильной группы ( $\text{COOH}$ ) на сульфогруппу ( $\text{SO}_3\text{H}$ ) в никотиновой (см. подп. 4.2.2) и пантотеновой (см. подп. 4.2.5) кислотах. Ошибочная подмена в биосинтезе аминокислоты пролина (1) сходной по структуре азетидин-2-карбоновой кислотой (2):



приводит к образованию дефектного фермента, не способного нормально функционировать.

Действие лекарственных средств, гербицидов, стимуляторов роста и множества биологически активных веществ заключается в том, что они ускоряют или ингибируют тот или иной ферментативный процесс.

Ферментативные процессы лежат в основе многих технологий пищевых технологий (хлебопечение, сыроделие, производство мясных и молочных продуктов), биотехнологий (производство лекарственных препаратов, витаминов, аминокислот, антибиотиков и др.). Ферменты широко используются в генной инженерии.

Производство ферментативных препаратов интенсивно развивается.

### 3.5. Коферменты

Ферменты способны проявлять каталитическую активность только при участии специальных низкомолекулярных веществ небелковой природы, именуемых **кофакторами**.

Можно выделить три группы кофаторов:

1) **специфические** коферменты, или коэнзимы, — низкомолекулярные органические соединения, обратимо связывающиеся с белками ферментов (апоферментами);

2) **протестические группы** — коферменты, прочно связывающиеся с апоферментом, как правило, за счет ковалентных связей;

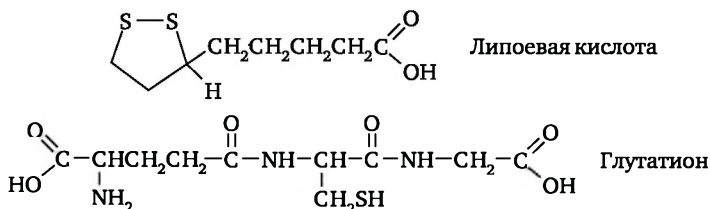
3) **активаторы** — неспецифические вещества, способствующие повышению каталитической активности ферментов.

Некоторые коферменты (АТФ, НАД и др.) самостоятельно существуют в растворе и соединяются с апоферментом только в момент реакции.

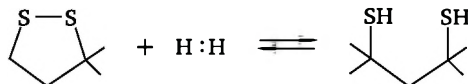
Многие коферменты и протестические группы являются производными витаминов и будут рассмотрены в гл. 5.

По функциям коферменты подразделяются на **три группы**.

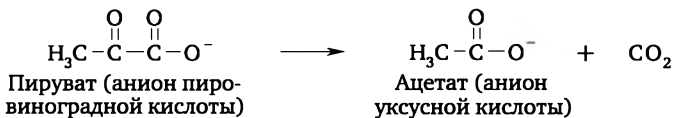
К **первой** группе относятся переносчики пары электронов (в виде молекулы водорода), связанные с ферментами дегидрогеназами (из класса оксидоредуктаз): никотинамидные (НАД, НАДФ, см. подп. 4.2.2) и флавиновые (ФМН, ФАД, см. подп. 4.2.3) коферменты, убихиноны, витамины группы К, аскорбиновая кислота (см. гл. 4), липоевая кислота, глутатион.



Сульфидный мостик (S-S) липоевой кислоты делает ее мягким окислителем, способным присоединять пару электронов связи Н-Н или С-Н.



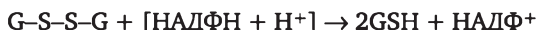
Главной коферментной функцией этой кислоты является участие в декарбоксилировании  $\alpha$ -кетокислот, в частности в превращении пирувата в ацетат:



Глутатион обладает восстановительными свойствами за счет группы SH. Метаболическая функция глутатиона (GSH) заключается в поддержании сульфидрильных цистеиновых групп в белках в восстановительном состоянии:



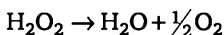
В белках



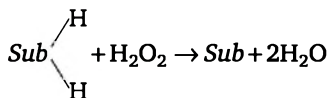
Особое место среди коферментов **первой** группы в классе **оксидоредуктаз** занимают коферменты, в состав которых входят ион металла и порфириновое ядро. Магнийевый комплекс замещенного порфирина — хлорофилл — принимает участие в фотосинтезе углеводов. А соответствующий комплекс с Fe(II) — **гем** — служит коферментом для белков (**гемоглобина**, **миоглобина**), осуществляющих перенос кислорода в процессе дыхания.

Гем входит в состав окислительно-восстановительных ферментов — цитохромов, выступающих в качестве переносчиков электронов от дегидраз к акцептору электронов — кислороду.

Гем служит также кофактором ферментов **гидропероксидаз**. Одни из них — **каталазы** — разлагают пероксид водорода:

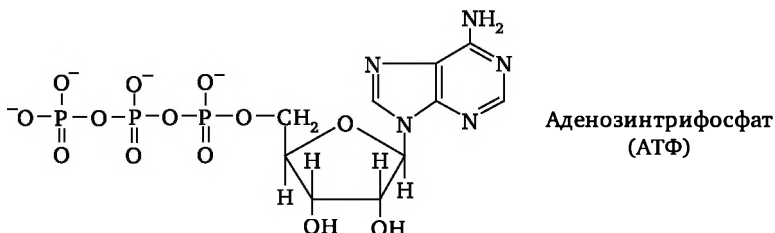


а другие — **пероксидазы** — переносят электроны от субстрата ( $\text{SubH}_2$ ) на гидропероксид (окислитель):



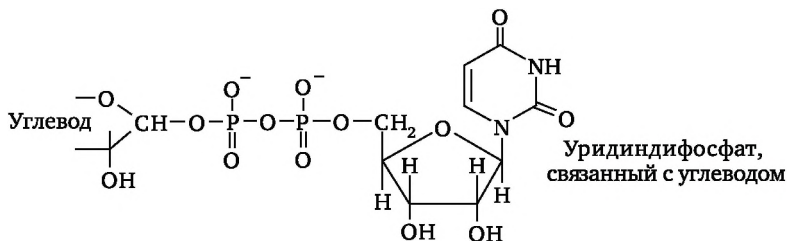
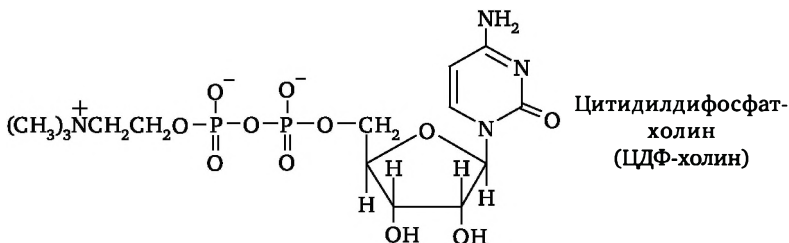
**Вторую** группу коферментов составляют переносчики групп атомов, связанные с ферментами класса трансфераз: нуклеозидфосфаты (аденозинтрифосфат, или АТФ, уридиновые нуклеотиды), кофермент А (КоА), фосфаты углеводов, пиридоксальные коферменты (пиридоксальфосфат, пиридоксаминфосфат), тетрагидрофолевая кислота (см. гл. 4).

**Аденозинтрифосфат (АТФ)** является макроэргическим (т. е. богатым энергией) аккумулятором энергии, образующейся при биологическом окислении углеводов и жиров, а именно при переносе пары электронов субстрата к молекуле кислорода либо к какому-либо другому акцептору.



Число ферментов, которые функционируют в связи с АТФ, огромно. АТФ-зависимые реакции разделяются на **два типа**. **Первый** тип связан с **переносом** части молекулы АТФ на акцептор, а **второй** — с извлечением энергии за счет **разрыва связи Р-О** для биохимического синтеза.

В качестве переносчиков групп атомов выступают, например, **цитидилдифосфат-холин** и **уридиндифосфат**.

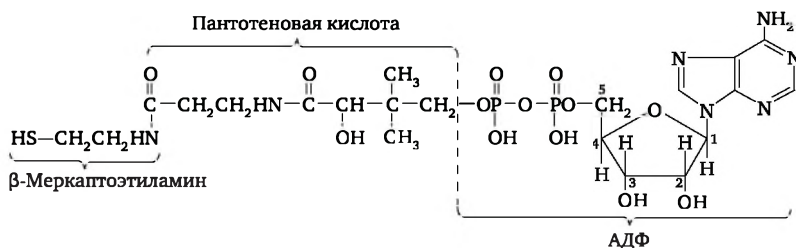


**ЦДФ-холин** и **ЦДФ-этаноламин** являются переносчиками групп в ферментативных реакциях субстратов, содержащих альдегидную и ацильную группы.

В обмене углеводов важную роль играют **уридиннуклеотидные коферменты**. Уридиндифосфат-сахара широко распространены в природе.

Коферменты, производные **тетрагидрофолиевой кислоты** участвуют в метаболических реакциях, связанных с переносом одноуглеродных фрагментов.

В качестве переносчика ацильных фрагментов в реакциях ацилирования и поставщика ацетильного радикала ( $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(=\text{O})\cdot$ ) в цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) выступает производное пантотеновой кислоты — **кофермент А**, или **коэнзим А** ( $\text{CoA-SH}$ ):



Ацильные радикалы локализуются на группе SH кофермента ( $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(=\text{O})\cdot$ ).

К **третьей** группе следует отнести коферменты, участвующие в синтезе, изомеризации и расщеплении углерод-углеродных связей (тиаминпирофосфат, кобамидные коферменты, биотин).

### 3.6. Гормоны, фитогормоны

В организмах животных функционирует две системы передачи информации между клетками и органами с участием химических средств: **нервная** и **гормональная**. Их биологическое предназначение определяется участием в регуляции обмена веществ и адаптации организма к условиям существования.

Нервная система обеспечивает передачу информационных сигналов и ответные реакции организма в очень короткие промежутки времени. Гормональная же система передает сигналы сравнительно медленно, а последствия их воздействия на организм зачастую отличаются широким диапазоном и устойчивостью во времени.

Носителями гормональной информации являются органические вещества, именуемые гормонами (от греч. *hormao* — возбуждаю, побуждаю), которые секретируются специализированными органами — **железами внутренней секреции** (эндокринными железами).

Гормоны, как и витамины, функционируют в очень небольших концентрациях.

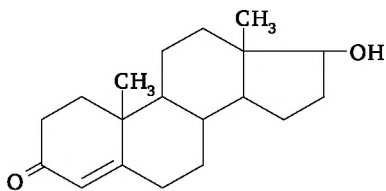
Гормональные сигналы характеризуются высокой специфичностью — химические носители информации распознаются и принимаются только теми клетками (клетками-мишенями), которые обладают соответствующими рецепторами. Механизм действия гормонов обычно сводится к влиянию на активность того или иного фермента, а в конечном счете — на генетический аппарат клетки.

Многие гормоны действуют при помощи двухинформационной системы. Гормоны, выступающие в качестве **первых информаторов**, направляются из клеток, где они синтезируются, к тканям, являющимся объектом действия. Здесь они стимулируют образование **второго информатора**, который воздействует на внутриклеточные рецепторы.

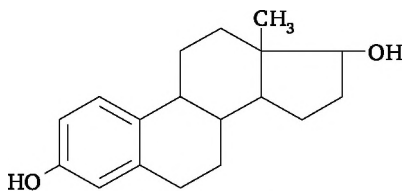
Гормоны классифицируют по признаку желез внутренней секреции, осуществляющих их синтез. К числу таких желез относятся: **щитовидная, паращитовидная, поджелудочная, зубная железа, подпочечники, гипофиз** (мозговой придаток), **половые железы** (семенники и яичники).

Деятельность эндокринных желез находится под контролем центральной нервной системы. При их заболевании (гипо- или гиперфункции) нарушается регуляция биохимических процессов, что приводит к заболеваемости и резкому снижению способности организма противостоять воздействию внешних и внутренних факторов. Причем нарушение функции одной из желез часто отражается на деятельности других желез и нервной системы.

По химической природе гормоны подразделяют на **стероидные, белково-пептидные, тиреоидные и катехоламины**. Отметим некоторые характерные представители указанных групп гормонов. Стероидные гормоны секретируются в половых железах и в корковом слое надпочечников. Половые гормоны: мужские (андрогены), например тестостерон, и женские (эстрогены), например эстрадиол — синтезируются на основе холестерина, обеспечивают развитие и функционирование в организмах репродуктивной системы.



Тестостерон



Эстрадиол

Кортикостероиды (кортизон, кортикостерон и др.) регулируют обмен углеводов, белков и липидов.

**Белково-пептидные** гормоны представляют собой обширный ряд биологически активных соединений, синтезируемых в гипофизе, панкреатических островках, гипоталамусе и других органах. В поджелудочной железе продуцируются гормоны **инсулин** и **глюкагон**.

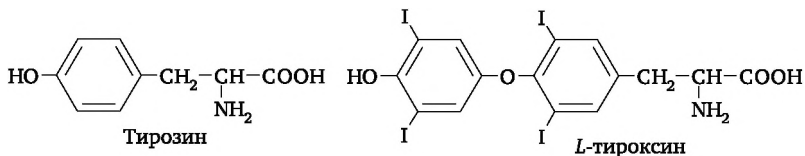
Молекулы инсулина включают 51 аминокислотный остаток:



О биологической роли инсулина в регуляции углеводного обмена см. параграф 6.4.

Гормон роста — **соматотропин** — простой белок (190 аминокислотных остатков) активизирует анаболические процессы, способствует росту скелета и тканей.

К производным аминокислоты тирозина относится ряд **тиреоидных** гормонов. Они находятся в фолликулах щитовидной железы в связанном состоянии с белком тиреоглобулином ( $M = 666\,000$ ), содержащим 140 остатков **тирозина**. В результате протеолиза последнего гормоны попадают в кровь. Действующим началом этих гормонов являются иодсодержащие производные тирозина, в частности **L-тироксин**.



Тиреоидные гормоны обладают анаболическим действием, обеспечивают нормальный рост и развитие организма. Нарушение функции щитовидной железы (гипо- или гипертриоз) может привести к кретинизму.

К группе катехоламинов относятся гормоны **адреналин** и **норадреналин**, образующиеся в мозговом слое надпочечников.





Адреналин оказывает биологическое действие в ничтожных количествах (0,0001—0,00001 мг, т. е. 0,1—0,01  $\mu\text{г}$ ) на 1 кг веса. В больших концентрациях адреналин является сильным ядом. Адреналин усиливает обмен веществ, особенно углеводов, вызывает усиленный распад гликогена. Норадреналин обладает сильным физиологическим действием на сосудистую систему.

Гормоны отличаются по механизму действием на клетки-мишени. Так, стероидные и тиреоидные гормоны способны проникать в клетку, где они взаимодействуют со специфическими рецепторами в цитоплазме. Образующиеся при этом **гормон-рецепторные** комплексы проникают в ядро клетки и взаимодействуют с хроматином, в результате чего изменяется синтетическая активность клетки.

Другая группа гормонов (**катехоламины**, **пептидные гормоны**) взаимодействуют со специфическими рецепторами на поверхности клеточной мембраны. При этом активируется механизм проведения сигнала в клетку, где увеличивается концентрация соединений и ионов, составляющих основу так называемого второго посредника в обеспечении гормонального эффекта. К таким посредникам относятся циклические нуклеотиды, дилицериды, арахидоновая кислота, ионы кальция и др.

Гормоны, действующие в растительных организмах, называются **фитогормонами**. Это вырабатываемые растениями низкомолекулярные вещества, которые участвуют в регуляции их физиологических и морфогенетических программ, обеспечивая взаимодействие клеток и органов. Фитогормоны действуют в очень низких концентрациях ( $10^{-13}$ — $10^5$  мол/л).

К фитогормонам относятся, прежде всего, регуляторы роста растений: ауксины, гибберелины, цитокинины, абсцизовая кислота и этилен (см. п. 13.4).

## Вопросы и задания для самоконтроля

1. Дайте определение ферментов (энзимов).
2. Какое строение имеют ферменты?
3. Какие классы ферментов вы знаете (согласно систематической номенклатуре и тривиальным названиям)?
4. Каков механизм действия ферментов? Назовите основные признаки ферментативного катализа.
5. Что вы знаете о природе и функциональной роли коферментов?
6. Расскажите о строении и биохимической роли коферментов АТФ и Ас-S-КоА.
7. Сравните две системы передачи информации в клетке: гормональную и нервную. Как разделяют гормоны по химической природе?

## Глава 4

# ВИТАМИНЫ

### 4.1. Общая характеристика

Витамины — это органические вещества, необходимые в небольших количествах для обеспечения нормального течения биохимических и физиологических процессов в организмах животных, человека и некоторых растений.

Витамины — это микроэлементы пищи. В отличие от макроэлементов пищи (углеводов, белков, жиров) суточная потребность человека в витаминах исчисляется миллиграммами и даже микрограммами.

Многие витамины входят в состав клеток животных, растений и микроорганизмов, выполняя одни и те же биохимические функции.

Известно более 30 витаминов, их предшественников (провитаминов) и витаминоподобных веществ. Источником витаминов для человека и животных являются растительная пища, а также продукты животного происхождения (молоко, масло, рыбий жир, печень, мясо и др.).

Витминоподобные вещества — это химические соединения, которые обладают свойствами витаминов, но частично синтезируются в организме. В ряде случаев их также с некоторой долей приближения называют витаминами.

При отсутствии витаминов в пище в организме развивается **авитаминоз**, при недостатке — **гиповитаминоз**, а при избытке витаминов — **гипервитаминоз**.

Витаминная недостаточность может также развиваться при нарушении обмена веществ вследствие некоторых заболеваний (эндогенная недостаточность).

Исторически сложилась тривиальная номенклатура, согласно которой витамины обозначали латинскими буквами (А, В, С, D). В настоящее время используют и систематическую номенклатуру.

По физико-химическим свойствам витамины подразделяют на две группы: **водорастворимые** и **жирорастворимые**. Условием растворимости вещества в воде, как известно, является наличие в молекулах функциональных групп, способных к сольватации (гидратации), прежде всего, за счет образования водородных связей ( $-\text{OH}$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{CONH}_2$ ,  $-\text{COOR}$  и др.). В жирах растворяются витамины, со-

держатся в молекулах длинноцепные алкильные или алкенильные радикалы. Известно, что вещества растворяются в подобных себе растворителях. А жиры как растворители характеризуются высоким содержанием гидрофобных алкильных радикалов, насыщенных и ненасыщенных карбоновых кислот, главным образом  $C_{16}-C_{18}$ .

Жирорастворимые витамины растворяются в неполярных растворителях (петролейном эфире, гексане, хлорированных углеводородах, диэтиловом эфире и др.).

По биологическому действию на организм витамины делятся на несколько групп (табл. 4.1).

Таблица 4.1

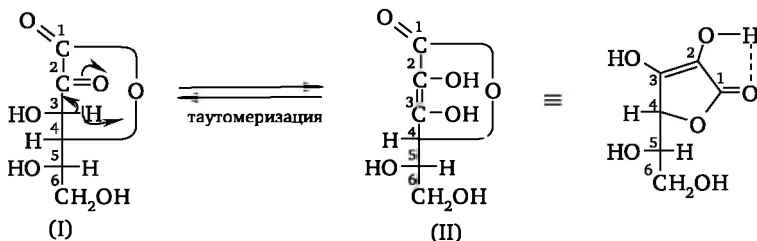
Разделение витаминов на группы по биологическому действию

№ п/п	Группа витаминов	Название витамина	Физиологическое действие
1	Повышающие общую резистентность	A, B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C, PP	Регулируют обмен веществ, питание тканей, функционирование нервной системы
2	Антигеморрагические	C, P, K	Укрепляют кровеносные сосуды, повышают свертываемость крови
3	Антианемические	A, B <sub>12</sub> , C, фолиевая кислота	Стимулируют кроветворение
4	Антиинфекционные	A, C	Повышают устойчивость к инфекциям, стимулируют синтез антител
5	Регуляторы зрения	A <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C	Усиливают остроту зрения

## 4.2. Водорастворимые витамины

### 4.2.1. Витамин С (аскорбиновая кислота, антискорбутный витамин)

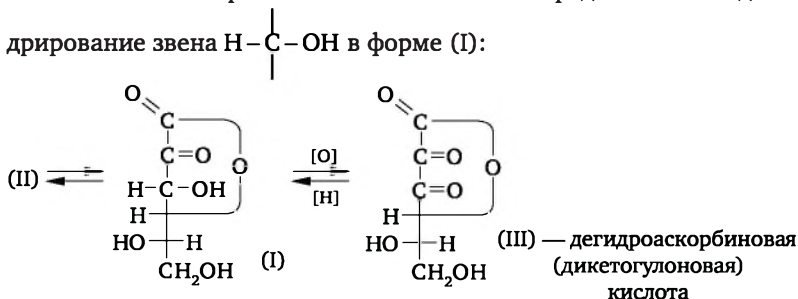
Витамин С является производным *L*-сорбозы — *L*-аналога *D*-фруктозы — и представляет собой  $\gamma$ -лактон  $\alpha$ -кетогулоновой кислоты (I и II — таутомерные формы; знак  $\rightleftharpoons$  указывает на тождественность формул).



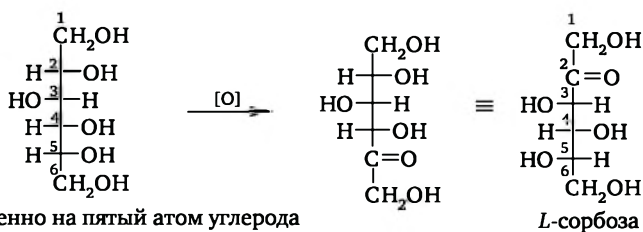
Как кислота витамин С ( $pK_a = 4,2$ ) превосходит уксусную ( $pK_a = 4,75$ ) и образует соли со щелочными металлами. Электронные эффекты обуславливают наибольшую подвижность протона гидроксильной группы во втором положении енольной формы (II).

Аскорбиновая кислота — **сильный восстановитель** и легко окисляется даже слабыми окислителями, хотя в отсутствие кислорода выдерживает нагревание до  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ . При окислении ее образуется дикетогулоновая (дегидроаскорбиновая) кислота (III), которая, в свою очередь, в мягких условиях восстанавливается в исходную ендиольную форму (II).

Окисление аскорбиновой кислоты можно представить как дегидрирование звена  $\text{H}-\text{C}-\text{OH}$  в форме (I):



**Синтез** аскорбиновой кислоты как в живой клетке, так и на практике осуществляется на основе *D*-глюкозы. Последняя восстанавливается в *D*-сорбит, который затем сбраживают с помощью бактерий *Acetobacter xylinum* в *L*-сорбозу.



Вспомним, что принадлежность к *L*- или *D*-ряду определяют по конфигурации **последнего** асимметрического атома углерода (в данном случае C-5). Применяя специальные меры защиты гидроксильных групп, в частности, в шестом положении, *L*-сорбозу окисляют по C-1 в  $\alpha$ -кетогулоновую кислоту, образующую  $\gamma$ -лактон.

В природе существуют только *L*-формы аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот. Синтетически полученная *D*-форма аскорбиновой кислоты в биологическом отношении не активна.

Биологическая роль витамина С связывается с участием ее в окислительно-восстановительных процессах. Предполагается, что основная его роль заключается в поддержании сульфгидрильных групп ферментативных белков в восстановленном состоянии, что обеспечивает их активность. Как восстановитель витамин С — сильный **антиоксидант**, препятствующий развитию процессов, связанных с окислительной деструкцией биомолекул.

Дикетогулоновая кислота свойствами витамина не обладает и разлагается на щавелевую и треоновую кислоты, которые выводятся с мочой.

Среднесуточная потребность в витамине С составляет для детей 80—90 мг, а для взрослых 50—70 мг. При тяжелых заболеваниях, ранениях, простудах, а также для беременных женщин доза витамина в рационе возрастает до 200 мг в сутки.

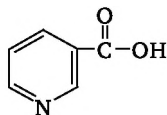
Аскорбиновая кислота широко распространена в природе, прежде всего, в фруктах, ягодах и организмах многих животных. В 100 г плодов шиповника содержится до 1000 мг, черной смородины — до 560 мг, петрушки — 150 мг, молока — 50 мг, лимона — 40 мг витамина.

У людей, обезьян и некоторых других животных витамин С не синтезируется и должен поступать в организм извне. Микроорганизмы не продуцируют этот витамин и не нуждаются в нем.

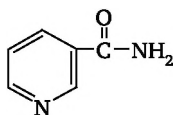
Недостаток витамина С в организме ослабляет его, повышает восприимчивость к инфекциям, вызывает заболевание — цингу (скорбут).

#### 4.2.2. Никотиновая кислота (ниацин, витамин РР, витамин В<sub>3</sub>, антипеллагрический витамин)

Ниацин — тривиальное название никотиновой кислоты, не имеющей ничего общего с содержащимся в табаке азотистым гетероциклом никотином. По биологической активности никотиновая кислота приравнивается к ее амиду.

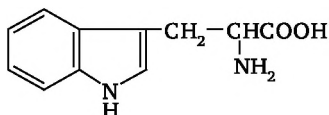


Никотиновая кислота



Никотинамид

Оба продукта термостабильны. В организмах никотиновая кислота синтезируется из незаменимой аминокислоты триптофана:

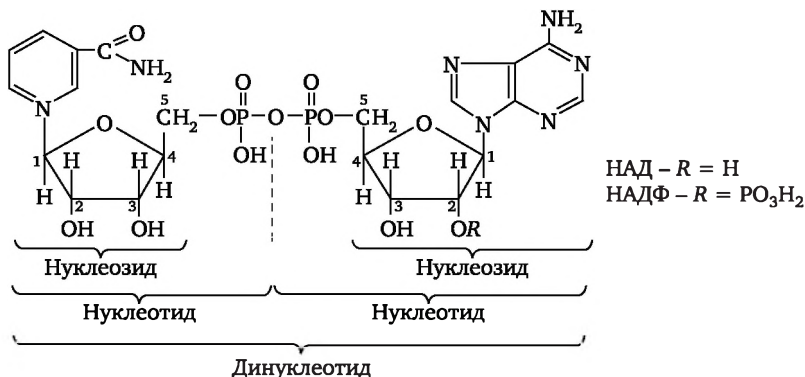


Последняя имеется в значительных количествах в молочных и, особенно, в мясных продуктах. Витамин РР поступает в организм также с крупами, хлебом, чаем.

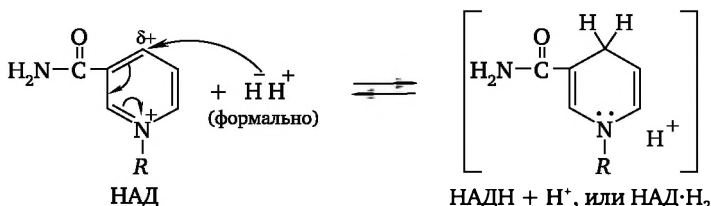
Суточная потребность человека в витамине РР составляет 20—30 мг. Из организма он выводится в неизменном виде с мочой.

Недостаток в организме витамина РР вызывает заболевание пеллагру (от итальянского *pelle agra* — шершавая кожа), связанное с болезненными изменениями кожи (дерматитами). Возможны также нарушения функции кишечника и нервной системы, вплоть до потери памяти и галлюцинаций.

Исключительно важная биологическая роль витамина РР определяется тем, что никотинамид является структурным элементом кофермента никотинамидадениндинуклеотида (НАД) и его фосфорилированного по группе ОН производного (НАДФ).



Коферменты НАД и НАДФ являются структурными фрагментами обширного ряда окислительно-восстановительных ферментов **дегидрогеназ**, относящихся к классу **оксидоредуктаз**. Именно фрагмент никотинамида, алкилированного по азоту, является ответственным за перенос пары электронов (в виде гидрид-аниона) в процессах биоокисления:



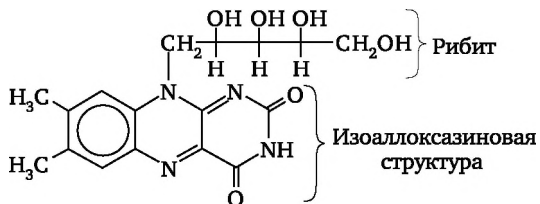
В частности, эти коферменты «обслуживают» дегидрирование спиртов (в том числе полуацеталей) и обратную реакцию — гидрирование карбонильной группы. Естественно, коферменты функцио-

нируют, будучи связанными с ферментами — дегидрогеназами. **Пиридинзависимые** дегидрогеназы относятся к разряду **анаэробных** дегидрогеназ, т. е. не способных передавать молекулу водорода непосредственно кислороду.

Кислородом воздуха НАД и НАДФ при pH 7 не окисляются.

#### 4.2.3. Рибофлавин (витамин В<sub>2</sub>)

В молекуле рибофлавина сочетаются изоаллоксазиновый и рибитовый фрагменты.



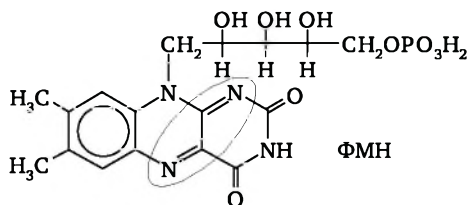
Полициклическая система изоаллоксазина придает молекуле ярко-желтую окраску. Нагревание рибофлавина до 120 °C не влияет на его активность.

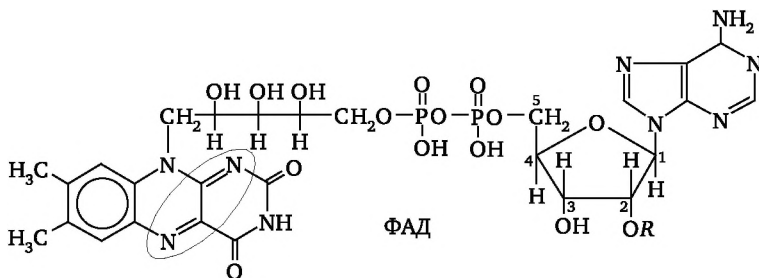
Суточная потребность в витамине В<sub>2</sub> — 2—3 мг, но при напряженной работе и беременности она увеличивается. Недостаток этого витамина в организме приводит к ослаблению тканевого дыхания, ускоренному распаду тканевых белков, к воспалению кожи, языка и роговой оболочки глаз. Рибофлавин всасывается в кишечнике в виде фосфорных эфиров, депонируется в печени, почках и других органах. Из организма он выводится, в основном, с мочой в неизменном виде.

Способностью синтезировать витамин В<sub>2</sub> обладает грибок *Erethecium ashbyii*, что используется в промышленном производстве рибофлавина.

Рибофлавин содержится в продуктах растительного и животного происхождения (в печени, мясе, моркови, пшенице, дрожжах и др.).

Рибофлавин входит в состав родственных коферментов — флавинмононуклеотида (ФМН) и флавинадениндинуклеотида (ФАД), участвующих в переносе электронов в окислительно-восстановительных биохимических процессах.

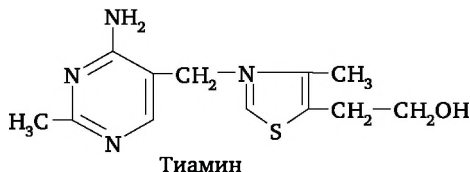




ФМН и ФАД прочно связаны с ферментами дегидрогеназами. Их известно около 30 и называются они **флавинзависимыми** дегидрогеназами. Именно фрагмент **изоаллоксазина** указанных коферментов переносит молекулу  $H_2$  в цитохромную систему (где она окисляется кислородом в воду) в результате ее обратимого присоединения в положения 1,4 звена  $N=C-C=N$  (в формуле оно обозначено штриховой линией).

#### 4.2.4. Тиамин (витамин $B_1$ )

Молекула тиамина содержит пиримидиновое и тиазольное кольца, соединенные метиленовой группой ( $CH_2$ ):



Синтез тиамина осуществлен в 1930-х гг.

Тиамин легко растворяется в воде, хлороформе и эфире, устойчив к действию высокой температуры. В отсутствие кислорода не теряет биологической активности даже при  $130-140^\circ C$ , что позволяет его в этих условиях стерилизовать.

Тиамин содержится в продуктах растительного и животного происхождения: в муке (особенно в отрубях), в неочищенном рисе, в хлебе, картофеле, в печени, почках и т. д. Недостаток витамина в пищевом рационе вызывает у человека болезнь бери-бери (неврологические расстройства, потеря веса).

В организме животных (в кишечнике, печени и других органах) тиамин фосфорилируется с помощью аденозинтрифосфата (АТФ) в тиаминпирофосфат и тиаминтрифосфат.

**Тиаминпирофосфат** выступает в качестве кофактора в ряде ферментативных реакций, в частности в окислительном декар-



боксилировании пирувата в процессе биологического окисления глюкозы. По этой причине суточная потребность человеческого организма в этом витамине при интенсивных физических нагрузках возрастает до 5 мг (при обычной среднесуточной дозе порядка 1,8 мг).

Тиаминовый **кофактор** участвует также в декарбоксилировании пирувата в процессе спиртового брожения глюкозы и при окислительном декарбоксилировании  $\alpha$ -кетоглутарата в цикле трикарбоновых кислот.

#### 4.2.5. Пантотеновая кислота (витамин В<sub>3</sub>)

Пантотеновая кислота представляет собой продукт ацилирования  $\beta$ -аланина по аминогруппе 3,3-диметил-2,4-дигидроксимасляной кислотой:



Пантотеновая кислота впервые выделена из дрожжей и экстракта печени в 1938 г. Приставка «пан» в названии указывает на широкое распространение этого витамина в природе.

Витамин содержится в пшеничной муке, горохе, печени, почках, яйцах и других продуктах. Небольшое количество витамина В<sub>3</sub> синтезируется в кишечнике человека микроорганизмами.

Суточная потребность в пантотеновой кислоте — 7—12 мг.

При авитаминозе у животных и птиц наблюдаются разнообразные патологические изменения: дерматиты, депигментация шерсти и перьев, потеря координации движений, неврозы, повреждения сердца, почек и др.

Пантотеновая кислота необходима для жизнедеятельности молочнокислых бактерий, дрожжей, человека, животных и растений. Биологическая роль кислоты определяется тем, что она является структурным элементом **кофермента А** (КоА-SH) (кофермента ацилирования) (см. параграф 3.5), выступающего во многих биохимических реакциях в качестве переносчика ацильных ( $\text{R}-\text{C} \begin{smallmatrix} \nearrow \text{O} \\ \searrow \end{smallmatrix}$ ), в том числе ацетильной ( $\text{H}_3\text{C}-\text{C} \begin{smallmatrix} \nearrow \text{O} \\ \searrow \end{smallmatrix}$ ) групп. Ацильные радикалы локализуются в КоА-SH на меркаптогруппе, замещая в последней атом водорода.



КоА-SH является поставщиком ацетильных радикалов в цикл трикарбоновых кислот (ЦТК). Другими примерами биохимических реакций с участием КоА-SH являются ацетилирование ароматических аминов в печени и превращение в тканях мозга холина в ацетилхолин.

#### 4.2.6. Витамин В<sub>12</sub> (противоанемический витамин)

Понятие «витамин В<sub>12</sub>» объединяет несколько соединений, близких по структуре, называемых корриноидами: цианкобаламин, аквакобаламин, аденозилкобаламин и др. Молекула витамина В<sub>12</sub> состоит из двух частей: циклической, корриновой системы (хромофорной) и нуклеотидной. В полость корринового кольца — производного четырех молекул пиррола — включен атом кобальта(III) (рис. 4.1).

Как видно, одна из аксиальных связей молекулы витамина занята 5,6-диметилбензимидазолрибонуклеотидом, а вторая (X) — каким-либо анионом (CN<sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup> и др.) или органическим лигандом (например, метильной или аденозильной группой).

Витамин В<sub>12</sub> хорошо растворим в воде, метаноле и этаноле. В кислой среде (рН 4,5—5) он выдерживает высокотемпературную стерилизацию, но разрушается на свету.

Витамин В<sub>12</sub> синтезируется грибами и некоторыми видами микроорганизмов, в том числе населяющими кишечник животных. Экскременты свиней характеризуются большим содержанием этого витамина, что объясняет положительный результат «эффекта навоза» для гребущихся в нем кур.

Суточная потребность здорового человека в витамине 3—10 мкг, с лечебной целью вводят 100—500 мкг. Он всасывается из кишечника в кровь в виде комплекса с белковым компонентом желудочного сока — транскоррином.

Витамин В<sub>12</sub> участвует в регуляции процесса кроветворения, обладает лечебным действием при злокачественной анемии у людей. При авитаминозе наблюдается резкое снижение кислотности желудочного сока.

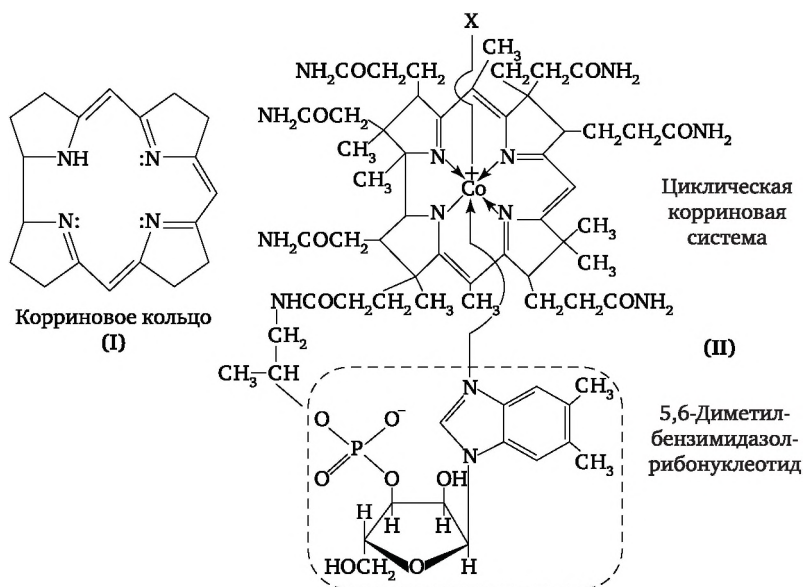


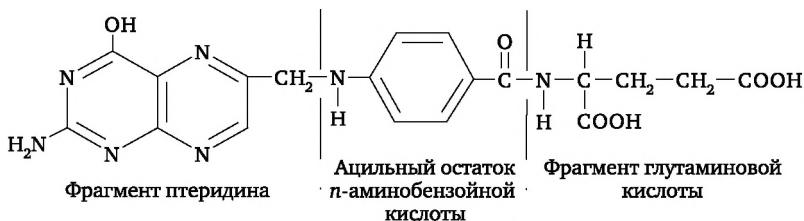
Рис. 4.1. Корриновое кольцо (I) и витамин B<sub>12</sub> (II)

Аденозилкобаламин связывается с ферментами класса трансфераз и таким образом участвует в переносе групп атомов (R, COOH, OH, NH<sub>2</sub>), а метилкобаламин участвует в переносе метильной группы.

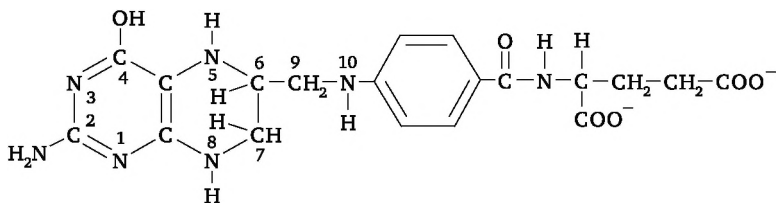
#### 4.2.7. Фолиевая кислота (витамин B<sub>9</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>11</sub>, птероилглутаминовая кислота)

Фолиевая кислота (от латинского *folium*) в больших количествах содержится в листьях растений и печени животных.

Молекула фолиевой кислоты состоит из глутаминовой кислоты, *p*-аминобензойной кислоты и гетероциклического соединения — замещенного птеридина:



Коферментными свойствами обладает не сама фолиевая кислота, а продукт ее восстановления — тетрагидрофолиевая кислота (кофермент ТТФК, ФН<sub>4</sub>).



Тетрагидрофолиевая кислота участвует в переносе одноуглеродных групп ( $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{H}$  и др.), в биосинтезе азотистых оснований нуклеиновых кислот, метионина, серина и других биомолекул.

Некоторые бактерии синтезируют фолиевую кислоту, необходимую для их жизнеобеспечения, на основе *p*-аминобензойной кислоты. С последней может конкурировать в процессе ферментативного синтеза подобный по структуре сульфаниламид (см. **антиметаболиты**). Этим объясняется действие сульфамидных препаратов, ингибирующих размножение и рост патогенных микроорганизмов.

Суточная потребность в фолиевой кислоте 0,2—0,5 мг.

Отсутствие в рационе питания человека фолиевой кислоты вызывает анемию, нарушения в синтезе эритроцитов и лейкоцитов, а также изменения в обмене веществ.

#### 4.2.8. Пиридоксин (витамин В<sub>6</sub>, адермин)

Понятие «витамин В<sub>6</sub>» объединяет три родственных соединения — производных пиридина:



В биологических системах они легко превращаются друг в друга.

Пиридоксин хорошо растворяется в воде и этиловом спирте, но плохо — в эфире и хлороформе.

Пиридоксин очень стабилен и не теряет биологической активности ни в кислой, ни в щелочной средах даже при нагревании. Однако он быстро окисляется и разрушается под действием света.

Среднесуточная потребность в витамине В<sub>6</sub> — 2—5 мг, при заболеваниях печени, малокровии — до 15 мг.

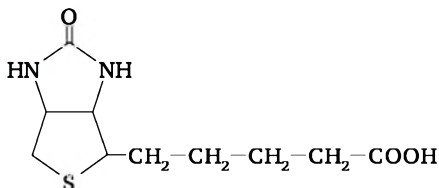
В организм витамин попадает с пшеничной и кукурузной мукой, крупами, дрожжами, с печенью, мясом и другими продуктами, а выводится из организма с мочой в виде 4-пиридоксалевой кислоты и ее лактона.

Микроорганизмы кишечника способны синтезировать 0,5—0,7 мг. Этот витамин всасывается в тонком кишечнике, в основном в виде пиридоксина, который затем превращается в пиридоксамин.

Пиридоксин под влиянием фермента пиридоксалькиназы фосфорилируется с помощью АТФ и связывается с белками-ферментами. Он принимает участие в декарбоксилировании глутаминовой кислоты с образованием  $\gamma$ -аминомасляной кислоты. При авитаминозе нарушаются процессы трансаминирования и, в целом, белковый обмен.

#### 4.2.9. Биотин (витамин Н)

Молекула биотина состоит из гидрированных колец имидазола и тиюфена, содержащего в качестве заместителя фрагмент валерьяновой кислоты.



Биоактивность биотина не изменяется, если вместо атома серы в цикл будет внедрен кислород.

Биотин хорошо растворяется в воде, спирте, устойчив к действию температуры в кислой и щелочной средах. Этот витамин является коферментом, ковалентно связанным с ферментными белками

амидной связью ( $\text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C--NH--}$  Белок). Биотин участвует в реакциях карбоксилирования (присоединения  $\text{CO}_2$ ) и переноса карбоксильной группы, в биосинтезе жирных кислот и пуриновых оснований. Биотин — фактор роста дрожжевых клеток.

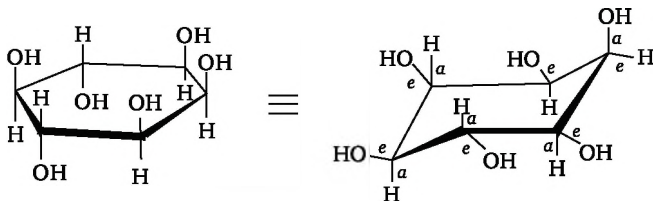
При авитаминозе развивается дерматит (шелушение кожи, выпадение волос, поражение ногтей), сопровождаемый себореей (обильным выделением жира салными железами).

Суточная потребность человека в биотине — 10—20 мкг. Больше всего биотин содержится в яичных желтках, печени, бобах. В яичном белке биотин прочно связан с белком авидином, что препятствует его всасыванию в кишечнике. При варке яиц авидин разрушается.

У большинства животных биотин синтезируется бактериальной флорой кишечника.

#### 4.2.10. Инозит

**Инозит** — это широко распространенный в животном и растительном мире шестиатомный спирт — гексагидроксициклогексан:



Мезоинозитол (a,e,e,e,e,e-изомер инозита)

Возможно существование восьми изомеров инозита, обусловленное тем, что каждая из гидроксильных групп может занимать аксиальное (a) или экваториальное (e) положение. Однако биологической активностью обладает лишь один изомер — представленный выше **мезоинозитол**.

Как полиол инозит хорошо растворим в воде.

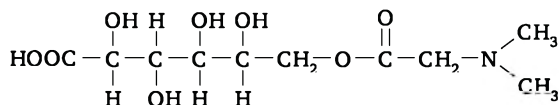
Инозитол необходим для роста микроорганизмов и нормального развития растений и животных. Миоинозит играет важную роль в качестве предшественника **уроновых** кислот, входящих в состав клеточной стенки растений. Фосфорилированный по всем шести гидроксильным группам миоинозит представляет собой **инозит-фосфорную кислоту**. Ее кальций-магниева соль называется **фитином**. Последний широко распространен в растениях, в частности его много в отрубях и в хлопчатниковом жмыхе.

Инозитол предотвращает жировую инфильтрацию печени.

Источники инозитола: печень, сердце, мозг, яичные желтки, грибы, хлеб, кукуруза и др.

#### 4.2.11. Витамин B<sub>15</sub> (пангамовая кислота)

Пангамовая кислота представляет собой сложный эфир D-глюконовой кислоты, ацилированной по группе OH в шестом положении диметиламиноуксусной кислотой



Витамин B<sub>15</sub> является донором метильных групп и это определяет его роль в обмене веществ. Он улучшает липидный обмен,

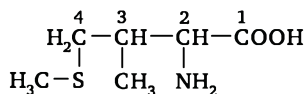
предотвращает жировую инфильтрацию печени, активизирует окислительные процессы в организме, в частности детоксикацию продуктов, попадающих в организм при отравлениях (хлорорганические соединения, наркотики, алкоголь и др.).

Препараты на основе пангамовой кислоты используются при нарушении обмена веществ.

Пангамовая кислота входит в состав семян растений, дрожжей, печени.

#### 4.2.12. Витамин U (метилметионин)

Метилметионин — это метилированная по третьему положению молекула аминокислоты метионина.

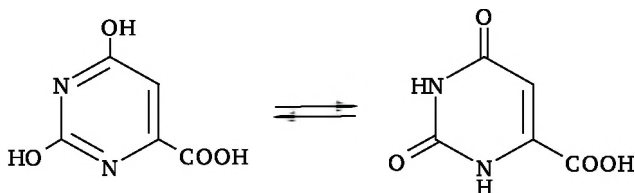


Метилметионин — активный донор метильной группы, участвует в биосинтезе холина и креатина, способствует заживлению повреждений слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта.

Витамин U содержится в больших количествах в соках сырых овощей, особенно в капустном соке. Выделенный кристаллический препарат из свежих томатов во много раз активнее капустного сока.

#### 4.2.13. Витамин B<sub>13</sub> (оротовая кислота)

Оротовая кислота — производное пиримидина.



Оротовая кислота усиливает анаболические процессы и тем самым стимулирует рост микроорганизмов, растений и животных. Оротат калия применяют при болезнях сердца, печени и для лечения некоторых видов анемии.

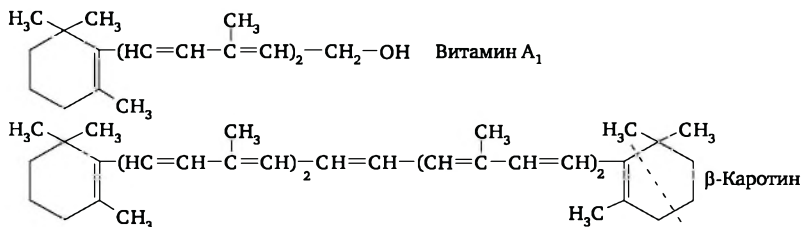
### 4.3. Жирорастворимые витамины

#### 4.3.1. Витамин А (ретинол, антиксерофтальмический витамин)

Понятие «витамин А» объединяет группу родственных изопреноидов, т. е. соединений, молекулы которых можно формально расчле-

нить на звенья углеродного скелета изопрена ( $\text{H}_2\text{C}=\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}-\text{HC}=\text{CH}_2$ ).

К этой группе относится обширный ряд растительных пигментов — каротинов (каротиноидов), от лат. *carota* — морковь, из которых наибольшее значение имеют витамин  $\text{A}_1$  (ретинол), выделенный из печени морских рыб, витамин  $\text{A}_2$  (дегидроретинол), полученный из печени пресноводных рыб, и  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -каротины.



Витамин  $\text{A}_2$  отличается от аналога  $\text{A}_1$  тем, что в цикле содержатся две сопряженные двойные связи.

Наличие в молекулах каротинов полиеновой системы сопряженных  $\pi$ -связей обуславливает их способность поглощать излучение в видимой ИК-области (400—500 нм) и связанную с этим поглощением яркую окраску.

Витамин А — светло-желтая маслянистая жидкость состава  $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{OH}$ . Все его двойные связи, кроме находящихся в циклах, имеют транс-конфигурацию.

Каротин ( $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$ ) — желто-красное вещество.

Каротиноиды хорошо растворяются в жирах, легко окисляются, многие из них играют роль витаминов или являются предшественниками таковых. Однако в организмах животных они не синтезируются и должны поступать в них с растительной пищей. В организме  $\beta$ -каротин под действием ферментов превращается в витамин А, поэтому каротины называют **провитаминами**, т. е. предшественниками витамина А.

Витамин А термостабилен (до 120 °С) в бескислородной среде. Под влиянием кислорода быстро окисляется, особенно в кислой среде, чему способствует солнечный свет.

Биологическая роль витамина А определяется его участием в зрительном процессе, в ходе которого он окисляется в соответствующий альдегид (ретиаль) и связывается с белком опсином.

Витамин А депонируется в печени человека, рыб и животных. Среднесуточная потребность взрослого человека 0,75—1,5 мг. При инфекционных заболеваниях и при работах, связанных с напряжением зрения, доза витамина должна быть увеличена до 4—5 мг.



При авитаминозе у человека ослабляется зрение вплоть до полной потери его в ночное время («куриная слепота»). Авитаминоз у животных выражается в воспалении роговицы и ксерофтальмии, связанной с высыханием и закрытием глаз, ослабляется иммунитет против инфекционных заболеваний, задерживается рост.

Прием больших доз витамина А (в 20—30 раз превышающих норму) может привести к отравлению и даже гибели человека.

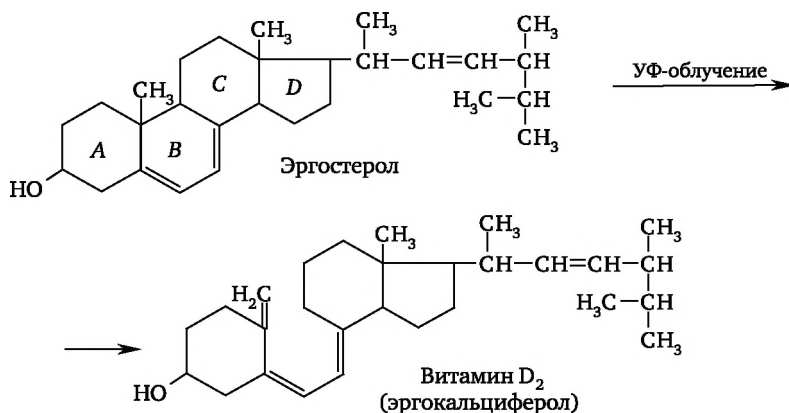
Витамин А частично выделяется с мочой в неизменном состоянии.

Главным источником витамина А является каротин, содержащийся вместе со своим ациклическим изомером (ликопином) в моркови, томатах, во многих плодах, в кровяной сыворотке, печени рыб и животных.

#### 4.3.2. Витамин D (холекальциферол, антирахитичный витамин)

Витамин D — это группа производных стеролов растительного и животного происхождения.

Витамины группы D встречаются только в организме животных. В растениях содержатся стеролы, из которых при облучении ультрафиолетовыми лучами образуются витамины. По этой причине они называются **провитаминами D**. Так, в дрожжах и плесневых грибах содержится в большом количестве эргостерол, используемый для промышленного получения витамина D<sub>2</sub>.



Наиболее распространенной формой витамина D является холекальциферол (витамин D<sub>3</sub>, получаемый при облучении 7-дегидрохолестерола).

Витамины группы D нерастворимы в воде, но хорошо растворимы в жирах и органических растворителях, в частности в углеводородных (петролейном эфире, гексане и др.). Витамины этого ряда устойчивы к высокой температуре, но быстро разрушаются под действием окислителей и минеральных кислот.

Реально биологической активностью обладает не сам витамин D<sub>3</sub>, а продукт его гидроксирования — **1,25-дигидроксихолекальциферол**, который в кишечнике и костях регулирует обмен Ca<sup>2+</sup> и фосфора. Солнечные лучи способствуют такому превращению в организме.

При недостатке в организме витамина D развивается заболевание рахит, связанное с уменьшением содержания кальция и фосфора. При этом размягчаются кости, перерождаются мышцы и ткани.

Суточная потребность взрослого человека в витамине D 10—20 мкг. Источники витамина D: печень, рыбий жир, сливочное масло и др. Как и все жирорастворимые витамины, **витамин D** всасывается в кишечнике и переваривается вместе с жирами, что требует предварительной эмульсации последних желчными кислотами.

**Гипервитаминоз** опасен преждевременным окостенением и торможением роста детей.

#### 4.3.3. Витамин E (токоферол, антистерильный витамин).

##### Антиоксиданты

Понятие «витамин E» объединяет семь близких по структуре соединений, из которых наиболее важными являются α-, β- и γ-токоферолы (от греч. *tokos* — потомство, *phero* — несу).

Наибольшей биологической активностью обладает α-токоферол.



Токоферолы устойчивы к нагреванию (до 175 °C), менее стойки в кислой и щелочной средах.

Недостаток витамина E в кормах приводит к нарушению половой функции у самок и самцов, возникает мышечная слабость (дистрофия), нарушается функция нервной системы и, в целом, обмен веществ. У человека наблюдается дегенерация печени и нарушение функции клеточных мембран. Предполагается, что витамин E препятствует окислению липидов в структуре клетки и пуриновых оснований.

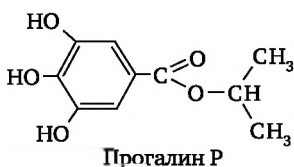
Токоферол — природный **антиоксидант**. Механизм действия антиоксиданта (будь то в живой клетке, в пищевом продукте или в полимерном материале) заключается в том, что, сталкиваясь с активным радикалом (R•, RO•, ROO•, O<sub>2</sub>• и др.), электронообогащенное кольцо фенола продуцирует очень стабильный («ленивый») феноксильный радикал, который не продолжает цепь радикальных

превращений и, таким образом, блокирует процесс окислительной деструкции.

Среднесуточная потребность человека в витамине Е — 10—20 мг.

Источники витамина: растительные масла, семена пшеницы, яйца, мясо и др.

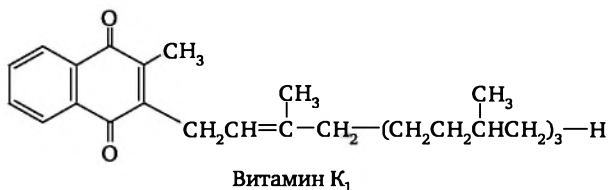
Аналогично ведут себя **полиалкилфенолы**, многоатомные фенолы и их производные, в том числе **пропилловый эфир галловой кислоты** (пищевой антиоксидант **прогалин Р**, или PG), **кверцетин** и его **гликозиды**.



Один из гликозидов кверцетина — **рутин** — относится к группе **витаминов Р**. Таннины дубильных веществ представляют собой глюкозу, ацилированную галловой и *m*-дигалловой кислотами, что сообщает им свойства антиоксиданта.

#### 4.3.4. Витамин К (филлохинон, антигеморрагический витамин)

Существует две основные формы витамина — витамин  $K_1$  (филлохинон) и витамин  $K_2$  (монахинон). Они являются производными бензохинона.



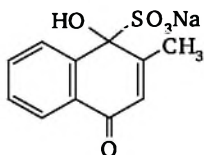
В другой модификации — витамине  $K_2$  — боковую цепь составляет шесть изопреновых звеньев, в каждом из которых имеется двойная связь.

Витамин  $K_1$  — маслянистая жидкость ( $t_{пл} = 20^\circ\text{C}$ ), чувствителен к свету, разрушается при действии ультрафиолетовых лучей. Витамин  $K_2$  — кристаллическое вещество ( $t_{пл} = 50 \div 52^\circ\text{C}$ ).

Витамин К (витамин коагуляции) участвует в образовании белка плазмы крови — протромбина — и обеспечивает нормальную **свертываемость крови**.

Витамин К в воде не растворяется, что ограничивало использование его в клинике для борьбы с кровотечением. А. В. Паладин син-

тезировал растворимый в воде заменитель витамина К — **викасол** (гидросульфитное производное 2-метил-1,4-нафтохинона).



Витамин К содержится в хлоропластах листьев зеленых растений. Его боковая цепь является остатком высокомолекулярного алифатического спирта **фитола**, входящего в состав хлорофилла. Витамин К синтезируется **микроорганизмами** в толстом кишечнике.

### Вопросы и задания для самоконтроля

1. Дайте определение витаминов и проведите их классификацию по признаку растворимости и по биологическому действию.
2. Расскажите о биологической роли витаминов-антиоксидантов — витаминов С, А, Е.
3. В основе каких коферментов лежат витамины В<sub>5</sub> (РР (ниацин), В<sub>2</sub> (рибофлавин) и В<sub>3</sub> (пантотеновая кислота)?
4. Какова природа и биологическая роль витаминов В<sub>12</sub> и D?

## Глава 5

# БИОЭНЕРГЕТИКА

# БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ

### 5.1. Общая стратегия энергообеспечения организмов

Биохимические процессы жизнеобеспечения связаны с затратами энергии. Основными ее источниками являются химические связи углеводов (сахаров) и жирных кислот, входящих в состав жиров, в меньшей степени — аминокислот белков. В частности, последние активно «сгорают» в условиях голодания животного и человека. Химизм этих процессов будет представлен в соответствующих параграфах. В настоящей главе мы ограничимся рассмотрением в продолжение темы «Ферменты и коферменты» того молекулярного «инструментария», с помощью которого организмы извлекают, хранят и переносят энергию.

Интересно отметить, что у некоторых микроорганизмов источником энергии для обмена веществ является окисление **неорганических веществ**. Так, бактерии-нитрификаторы окисляют аммиак в азотистую и далее — азотистую кислоту, серобактерии окисляют сероводород и другие соединения серы, а водородные бактерии — водород. Известны также бактерии, в которых источником энергии является окисление соединений железа или марганца.

Освобождающаяся при окислении энергия используется для **ассимиляции углекислоты** и последующих метаболических процессов.

Подавляющее большинство организмов нуждается в **углеводах**, образующихся преимущественно в процессе **фотосинтеза** в зеленом листе растений.

Представим себе, что полено, состоящее из полисахаридов (клетчатки), сгорает в костре. «Достоянием» кислорода (окислителя) становятся электроны связей C–H и C–C. Образование диоксида углерода и воды сопровождается выделением большого количества энергии, которая рассеивается в виде тепла.

Нечто подобное происходит в условиях биологического окисления энергоносителей — **углеводов и карбоновых кислот**. Только реализуются эти процессы в очень мягких условиях ферментативного катализа, причем стадии образования  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  разделены

в пространстве и во времени. Часть образующейся при биоокислении энергии аккумулируется в макроэргических (т. е. обогащенных энергией) связях Р–О в процессе так называемого **окислительного фосфорилирования**, связанного с превращением аденозиндифосфата (АДФ) в аденозинтрифосфат (АТФ), и далее используется для биосинтеза. Другая же часть (от 20 до 70 % в зависимости от природы биосистемы) рассеивается в виде тепла.

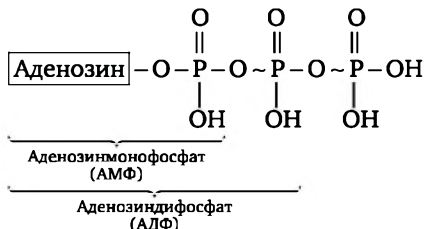
Характерно, что даже в случае зеленых растений, получающих значительные количества энергии в виде солнечного света, извлечение энергии химическим путем играет важную роль. Опыты с проростками пшеницы показали, что на отдельных стадиях роста запасается до 50 % продуцируемой энергии, а при росте дрожжей на глюкозе, этаноле или уксусной кислоте запасается соответственно 29,2; 36,6 и 22,6 % энергии.

## 5.2. Переносчики химической энергии и некоторые пути их трансформации.

### Субстратное и окислительное фосфорилирование

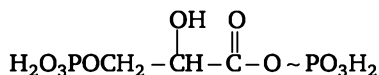
Аккумуляция энергии в живой клетке осуществляется за счет образования так называемых **ангидросоединений** — ангидридов и сложных эфиров фосфорной и полифосфорных кислот. Назовем наиболее важные из них, обозначив макроэргические связи — носители избыточной энергии — волнистой чертой (~), остаток фосфорной кислоты — символом Ф, а вступающую в реакцию молекулу неорганического фосфата, представленного в цитоплазме фосфат-ионом, —  $\text{Ф}_\text{н}$ .

1. Аденозиндифосфат (АДФ) и аденозинтрифосфат (АТФ) (см. параграф 3.5).

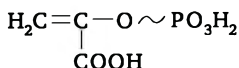


или аденозин-Ф-Ф-Ф.

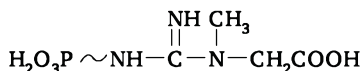
2. Карбоксилфосфатная связь, например, в 1,3-дифосфоглицериновой кислоте:



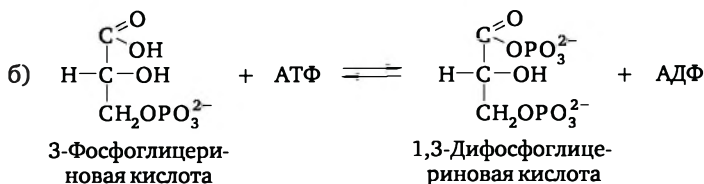
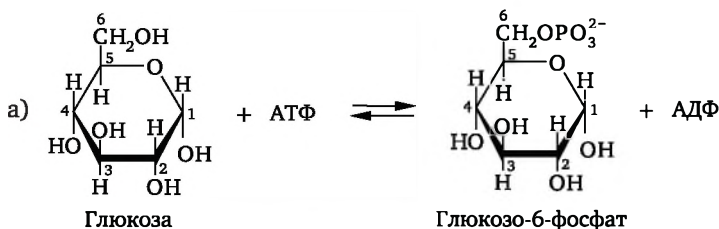
3. Енолфосфатная связь, например, в **фосфоенолпировиноградной** кислоте:



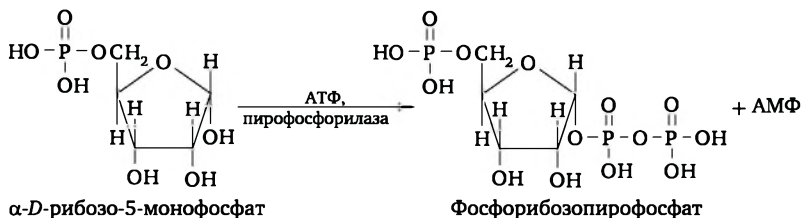
4. Фосфоаминная связь в **креатинфосфате**:



Универсальным переносчиком химической энергии является **АТФ**, в котором под влиянием специфических ферментов могут расщепляться различные связи Р-О. Например, при действии на спирты, енолы и кислоты АТФ передает кислороду гидроксильной группы **один** остаток фосфорной кислоты (Ф):

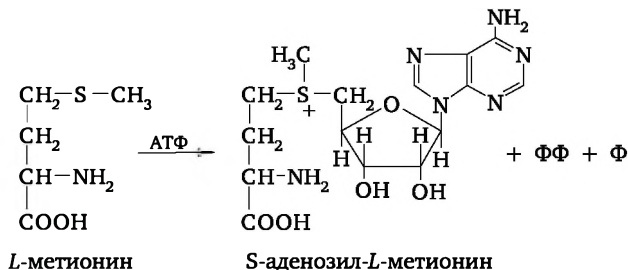


в) в других случаях АТФ при атаке на субстрат передает ему **пирофосфат (ФФ)**:

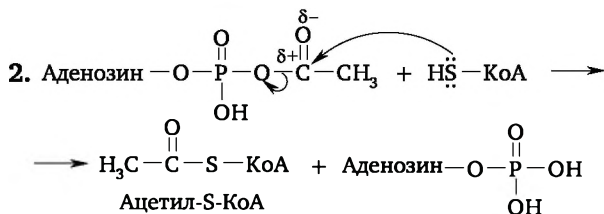
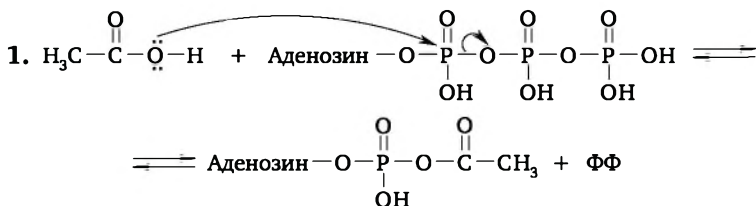


Образующийся фосфорибозопирофосфат участвует в синтезе нуклеотидов;

г) Известны также случаи полного дефосфорилирования АТФ:

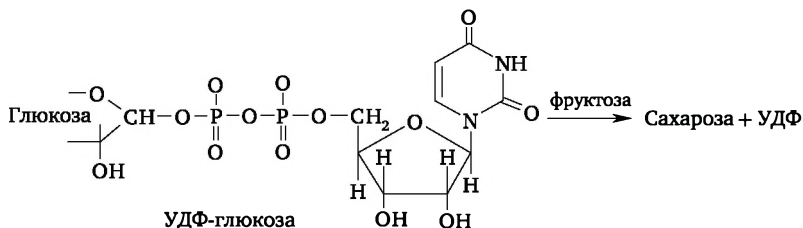


АТФ способен продуцировать **аденозинмонофосфат**, который выступает в качестве переносчика ацетильной группы на кофермент А (KoA-SH) в биосинтезе жирных кислот. Постадийно:



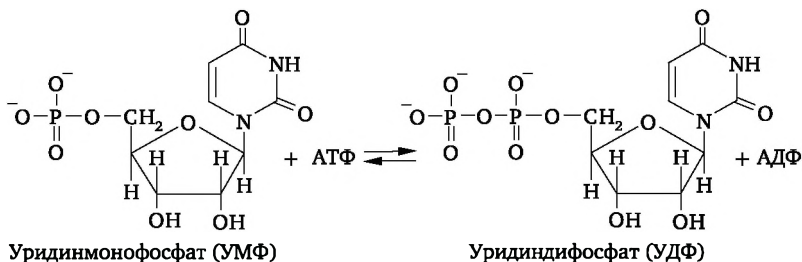
В обмене веществ участвует ряд **нуклеозидполифосфатов** — моно-, ди- и трифосфаты уридина, гуанидина, цитидина и инозина (см. параграф 3.5).

Например, синтез сахарозы в растениях осуществляется с участием **уридиндифосфатглюкозы** (УДФ-глюкозы):





Уридиндифосфат (УДФ) образуется при воздействии АТФ на уридинмонофосфат.



АТФ является своеобразной «разменной монетой» — единицей измерения накопленной и расходуемой в процессе биосинтеза энергии. При гидролизе молекулы АТФ до АДФ выделяется 30,6 кДж энергии.

Итак, биологическое окисление — это источник энергии, которая аккумулируется в связях Р–О путем фосфорилирования аденозиндифосфата (АДФ).

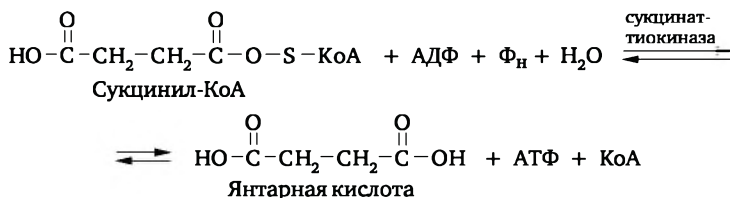
Различают субстратное и окислительное фосфорилирование.

Субстратное фосфорилирование осуществляется в цитоплазме клетки, катализируется растворимыми ферментными системами и связано с переносом энергии от макроэргических связей субстрата на связь Р–О с образованием АТФ.

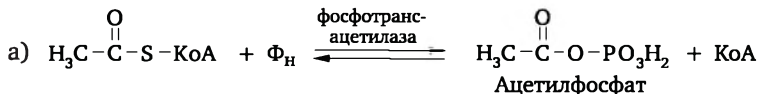
Отметим некоторые примеры субстратного фосфорилирования.

1. Образование молекулы АТФ при трансформации 1,3-дифосфоглицериновой кислоты в 3-фосфоглицериновую кислоту под влиянием 3-фосфоглицераткиназы (см. рис. 6.3).

2. Фосфорилирование АДФ с помощью сукцинил-КоА в растительной клетке:

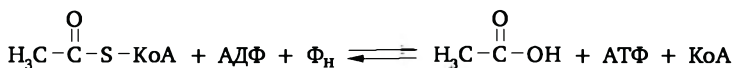


3. Фосфорилирование АДФ ацетилфосфатом с участием ацетил-КоА, наблюдаемое у некоторых бактерий:





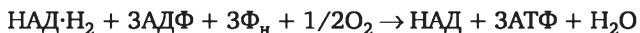
Суммарная реакция:



Как видно, в ряде случаев превращение АДФ в АТФ связано с поглощением неорганического фосфата ( $\text{Ф}_\text{H}$ ).

**Окислительное фосфорилирование в дыхательной** (электропроводящей) цепи заключается в высвобождении энергии молекул водорода, локализованных на коферментах ( $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ ,  $\text{ФАД}\cdot\text{H}_2$ ) дегидрогеназ. Это сложный многоступенчатый процесс переноса пар электронов и протонов ( $\text{H}:\text{H}$ ) через каскад ферментов-цитохромов к возбужденным атомам кислорода с образованием в конечном счете воды. Причем, в отличие от простого химического окисления водорода, биологическое окисление обеспечивает плавную трехступенчатую трансформацию энергии электронов в энергию фосфатных связей на различных участках дыхательной цепи. Одна молекула  $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$  продуцирует три молекулы АТФ.

Суммарное уравнение окисления  $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$  в дыхательной цепи, сопровождаемого фосфорилированием, можно представить уравнением



### 5.3. Анаэробный и аэробный механизм окисления — общая характеристика

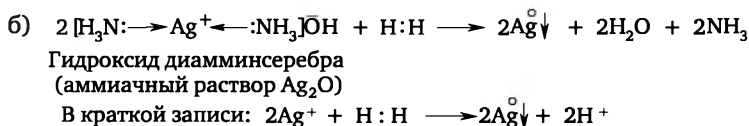
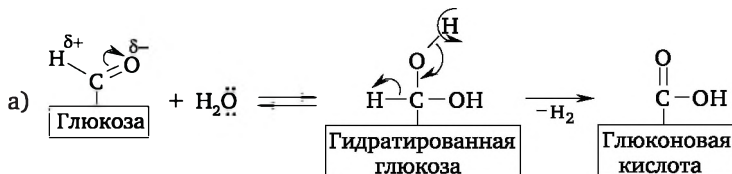
В живой клетке реализуется два типа ферментативного окисления органических веществ — **анаэробный**, протекающий без участия кислорода, и **аэробный**, связанный с окислительным действием на заключительных стадиях кислорода. В основе первого лежат процессы **дегидрирования** (отщепления молекул  $\text{H}_2$ ) (В. И. Палладин, Г. Виланд, О. Варбург) под влиянием ферментов дегидрогеназ и декарбоксилирования, осуществляемого ферментами декарбоксилазами. Высвобождаемая в этих процессах биоэнергия аккумулируется за счет фосфорилирования АДФ в АТФ.

В качестве акцепторов отщепляющихся молекул водорода в анаэробном окислении выступают промежуточные продукты превращений — метаболиты (например, ацетальдегид — в спиртовом брожении; пировиноградная кислота — в молочнокислом брожении).

Именно анаэробное окисление было безальтернативным механизмом энергообеспечения на ранних стадиях эволюции жизни

на Земле, поскольку кислород в атмосфере в то время отсутствовал. Требуемый для биохимических превращений кислород в анаэробных условиях поставляет вода. Вначале молекула воды внедряется в субстрат, затем ферменты дегидрогеназы отщепляют молекулу водорода, оставляя субстрат в окисленной форме.

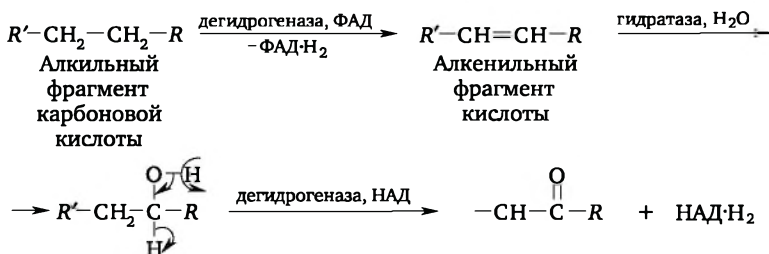
Химической моделью биологического окисления через дегидрирование субстрата является классическая реакция **серебряного зеркала** в химии альдегидов. Постадийно:



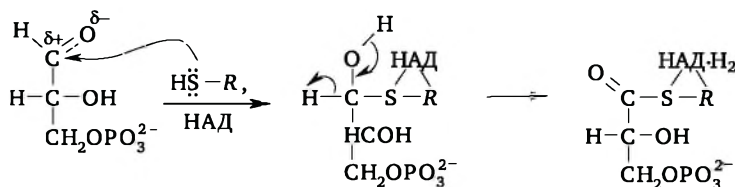
Процессы окисления, связанные с дегидрированием, реализуются в условиях анаэробного окисления глюкозы (**гликолиз, брожение**) (см. рис. 6.1, 6.2), при окислительной деструкции **пировиноградной**

**кислоты** (см. рис. 6.5) и **ацетил-S-KoA** ( $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{S}-\text{KoA}$ ) в **цикле трикарбоновых кислот (ЦТК)** (см. рис. 6.6), в **пентозофосфатном окислении** глюкозы (см. рис. 6.8), в реакциях  $\alpha$ - и  $\beta$ -окисления жирных кислот и в других процессах.

Например, в процессе  $\beta$ -окисления карбоновой кислоты реализуются такие ферментативные реакции:



Окисление альдегидной группы 3-фосфатглицеральдегида в процессе **гликолиза** связано с предварительным присоединением по карбонильной группе группы SH фермента глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (R-SH) и последующим дегидрированием:



Позже (в историческом плане) фотосинтез и жизнедеятельность живой материи привели к накоплению в атмосфере Земли свободного кислорода, что создало предпосылки для формирования **аэробного механизма** окисления. Процессы дегидрирования при этом не потеряли своего значения, но в качестве акцептора (окислителя) молекул водорода на заключительных стадиях начал функционировать кислород.

С этих пор процесс развития живой материи значительно интенсифицировался, так как аэробное окисление в плане энергообеспечения во много раз эффективнее анаэробного. До 80 % необходимой для жизнеобеспечения энергии организмы получают именно за счет аэробного биологического окисления (дыхания).

Существует три способа окислительного действия кислорода:

1) окисление водорода до воды в дыхательной цепи, т. е. в комплексе ферментов цитохромов (оксидаз), локализованных в митохондриях клетки. Молекулы водорода поставляются в цепь в виде восстановленных коферментов НАД·Н<sub>2</sub>, ФАД·Н<sub>2</sub>, связанных с **анаэробными дегидрогеназами**;

2) окисление водорода НАД·Н<sub>2</sub> и НАДФ·Н<sub>2</sub> с участием промежуточных агентов — **аэробных дегидрогеназ** флавинового типа. Флавиновые ферменты (флавопротеиды) включают в качестве коферментов флавинмоноклеотид (ФМН) или флавинадениндинуклеотид (ФАД), являющиеся более сильными окислителями (акцепторами водорода), чем НАД и НАДФ.

Известным флавопротеином является **желтый дыхательный фермент**, отщепляющий Н<sub>2</sub> от НАДФ·Н<sub>2</sub> при окислении гексозомонофосфата в фосфоглюконовую кислоту. Далее аэробная дегидрогеназа, а именно — ее восстановленный фрагмент ФАД·Н<sub>2</sub> передает молекулу водорода кислороду воздуха.

ФАД является активной простетической группой фермента, катализирующего окисление аминокислот, а также фермента **ксантиноксидазы**, катализирующего окисление пуриновых оснований, в частности ксантина, до мочевой кислоты;

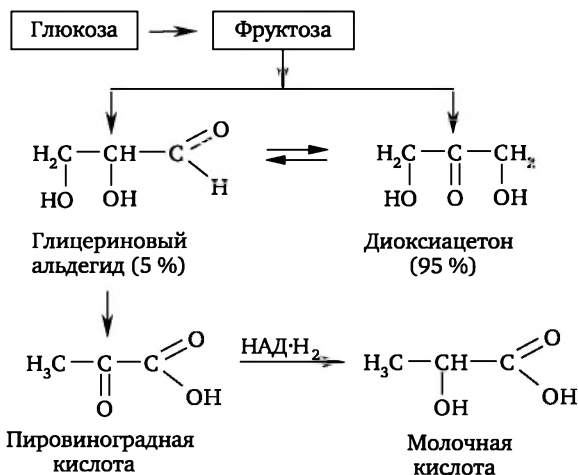
Восстановленные формы флавиновых ферментов могут передавать водород не только кислороду воздуха, но и метиленовой сини, полифенолоксидазной или цитохромной системам;

3) третий путь окисления связан с непосредственным воздействием окислителя на субстрат с внедрением в его структуру одного

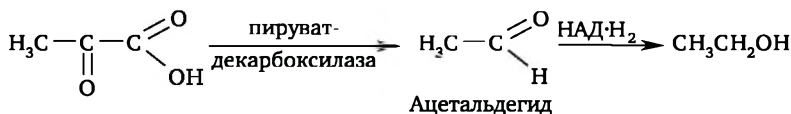
или двух атомов кислорода (А. Н. Бах). Окисление такого типа осуществляется так называемыми **прямыми оксидазами** и не сопровождается образованием АТФ.

Классическим примером, демонстрирующим взаимосвязь и энергетические возможности анаэробного и аэробного окисления, является многоплановый процесс **диссимилиации** (катаболизма) **глюкозы**. Подробно он будет рассмотрен в следующей главе. В настоящем параграфе мы лишь проследим за тем, что стадии, связанные с анаэробным окислением, продуцируют гораздо меньше энергии, чем аэробные процессы.

Первая фаза — **гликолиз** (от лат. *gluco* — сахар; *lysis* — распад), т. е. распад молекулы глюкозы на две молекулы пировиноградной или молочной кислоты является общей для обоих процессов и протекает в анаэробном режиме:



Анаэробный процесс спиртового брожения связан с **декарбоксилированием** пировиноградной кислоты и восстановлением образующего уксусного альдегида до спирта:



В целом спиртовое брожение



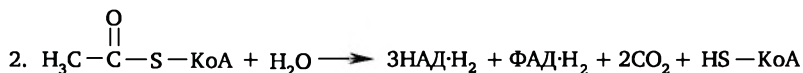
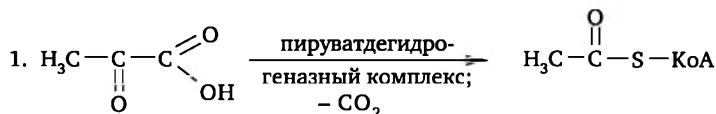
характеризуется незначительным изменением свободной энергии системы ( $\Delta G = -210$  кДж/моль) и полезным использованием энергии на 29 %.

Гликолиз находит продолжение и в **аэробном биологическом окислении**, питающим энергией растительные и животные организмы. Однако следующие за гликолизом стадии этого процесса, а именно:

— **окислительное декарбоксилирование** пировиноградной

кислоты с образованием ацетил-КоА ( $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{S}-\text{KoA}$ ) (1);

— полная **деструкция** последнего до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2$  в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК) (2) — все еще протекают, как и гликолиз, в анаэробном режиме. В основе этих стадий лежат реакции дегидрирования и декарбоксилирования.



Необходимо подчеркнуть, что **декарбоксилирование** существенно отличается от **окислительного декарбоксилирования**. Так, обычное декарбоксилирование  $\alpha$ -кетокислоты выражается в замещении карбоксильной группы на атом водорода:



Окислительное декарбоксилирование этого же субстрата протекает глубже — альдегид становится промежуточным соединением, который окисляется до кислоты или ее производного (например, до тиоэфира). Как было показано на с. 49, окисление альдегида связано с присоединением по карбонильной группе протогенного реагента (например,  $\text{H}_2\text{O}$  или  $\text{R}-\text{SH}$ ) и последующим дегидрированием интермедиата.

И лишь в заключительной стадии аэробного окисления глюкозы в процесс включается **кислород**. Четыре молекулы водорода поставляются из ЦТК дегидрогеназами в **дыхательную цепь**, локализованную в силовых станциях клеток — **митохондриях**, и окисляются до воды, освобождая большое количество энергии. Диссимиляция двух молекул ацетил-КоА вместе с окислением восьми молекул водорода в дыхательной цепи продуцируют 24 молекулы АТФ. Суммарно в условиях полного окисления глюкозы:



образуется 38 молекул АТФ, т. е. в 19 раз больше, чем в анаэробном процессе спиртового брожения. При этом изменение свободной энергии системы составляет  $\Delta G = -2880$  кДж/моль, а коэффициент полезного использования энергии — порядка 40 %.

## 5.4. Цитохромы и их предшественники.

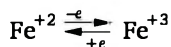
### Другие конечные оксидазы

Ферменты **цитохромы**, обозначаемые латинскими буквами (*a*, *a*<sub>3</sub>, *b*, *b*<sub>3</sub>, *b*<sub>6</sub>, *b*<sub>7</sub>, *c*, *c*<sub>1</sub>, *d*, *f*, *o* и др.), представляют собой **протеиды** (белки), содержащие в качестве простетических групп **гемы**. Последние являются порфириновыми комплексами железа и обнаруживают сходство с простетическими группами пероксидазы и каталазы. Цитохромы отличаются типом заместителя в порфириновом цикле, природой белковой части и ее связи с гемом.

Физиологическая функция цитохромных систем заключается в окислении кислородом молекул водорода, отщепляемых пиридиновыми и флавиновыми дегидрогеназами от субстратов, в частности, в цикле трикарбоновых кислот. Цитохромные системы содержатся в клетках животных, в дрожжах и бактериях, в меньших количествах — в высших растениях. Локализируются цитохромы в митохондриях, хлоропластах и микросомах.

Многие цитохромы выделены из биообъектов в кристаллическом состоянии. Их молекулярная масса колеблется в пределах 12 000—250 000.

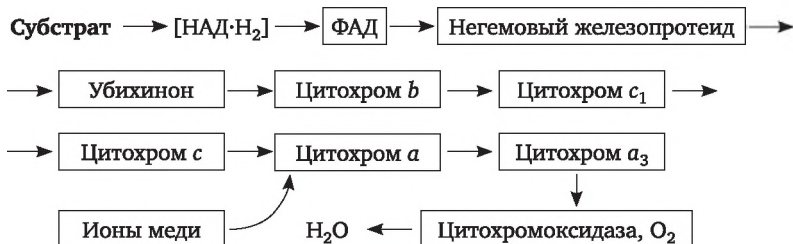
Цитохромы существуют в окисленной и восстановленной формах, легко превращающихся друг в друга в результате переноса электрона:



В живой клетке окисленная форма цитохрома ( $\text{Fe}^{+3}$ ) принимает электрон от атома водорода, локализованного на восстановленной дегидрогеназе, и передает его по эстафетному механизму атому кислорода. Последний активируется терминальным цитохромом (*a*<sub>3</sub>) — **цитохромоксидазой** — и приобретает способность реагировать с ионизированными атомами водорода, образуя воду. Действие цитохромоксидазы, как и других железосодержащих ферментов, угнетается синильной кислотой и оксидом углерода (II), что обусловлено способностью этих реагентов связываться с железом, заключенным в гемы.

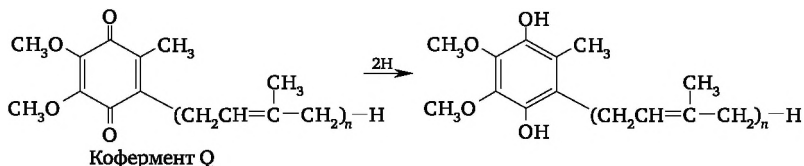
В качестве промежуточных звеньев в переносе электронов молекул водорода от восстановленных анаэробных дегидрогеназ к кислороду выступают наряду с цитохромами **флавопротеиды** (флавинзависимые дегидрогеназы), негемовые железопротеиды (ферредоксины) и жирорастворимые хиноны (убихиноны, или коферменты Q).

Например, один из вариантов переноса электронов (в виде  $H_2$ ) в растительных организмах можно представить в виде схемы:



**Негемовые железопротеиды** содержат железо, связанное с белковыми структурами сульфидной серой. Ферредоксины найдены в анаэробных, аэробных и фотосинтезирующих бактериях, водорослях, грибах, высших растениях и животных. Они участвуют в различных биохимических процессах: дыхании, фотосинтезе, фиксации молекулярного азота и др.

В клеточном дыхании принимают участие **убихиноны** (коферменты Q), осуществляющие перенос электронов ( $H_2$ ) от флавинзависимых коферментов (ФМН, ФАД) на цитохромную систему по схеме:



В клетках животных и растений преобладает  $Q_{10}$  ( $n = 10$ ). В хлоропластах обнаружен пластохинон ( $n = 9$ ). Из бактерий выделены также  $Q_6$ ,  $Q_7$ ,  $Q_8$ .

Заключительную стадию окисления водорода кислородом согласно приведенной выше схеме дыхательной цепи митохондрий осуществляет **цитохромоксидаза** — железо- и медьсодержащий белковый комплекс ( $M = 140\,000$ ).

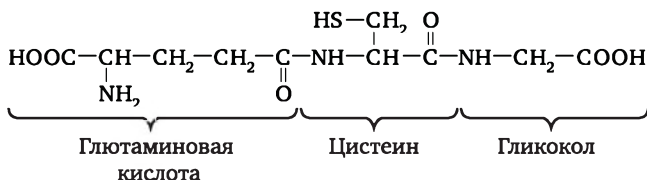
Процессы аэробного окисления у клеток прокариот локализованы в **клеточной мембране**, а у эукариот — в **митохондриях**. Переносчики электронов в митохондриях организованы в дыхательные



ансамбли. Так, в митохондриях печени содержится около 17 000 дыхательных ансамблей, а в митохондриях сердца — до 50 000.

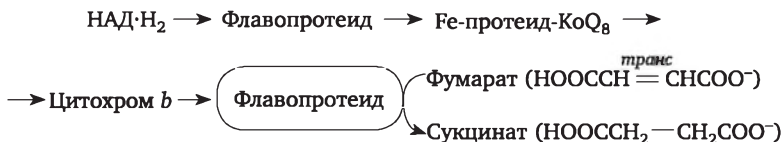
Методом экстракции растворителями выделены различные фракции дыхательной цепи, получившие название **функциональных комплексов**. С помощью физико-химических методов охарактеризовано четыре митохондриальных комплекса клеток животных, содержащие различные комбинации коферментов, цитохромов и структур с негемовым железом. Установлено, что эти комплексы способны катализировать свойственные для клеток реакции.

Интересно отметить, что в процессе эволюционного развития растений происходили изменения в природе «**конечных**» оксидаз. Например, в прорастающих семенах ячменя на первом этапе функционирует цитохромная система, но далее она уступает место **флавиновой системе**, взаимодействующей непосредственно с кислородом. А у белокочанной капусты роль конечной оксидазы играет **аскорбинооксидазная система**. В последнем случае окислительно-восстановительные превращения аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот тесно связаны с ферментативными превращениями системы окисленного и восстановленного глутатиона — трипептида, содержащего легкоокисляемую сульфгидрильную группу:



Итак, в аэробных условиях конечным акцептором переноса электронов в виде  $\text{H}_2$  является молекулярный кислород. Однако прокариоты могут использовать в качестве акцепторов электронов, особенно в анаэробных условиях, целый ряд органических и неорганических соединений (фумарат,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  и др.). Процессы с таким (некислородным) механизмом акцептирования электронов относятся к типу **анаэробного дыхания**.

Например, анаэробную ветвь дыхательной цепи бактерии *E. coli* можно представить схемой:



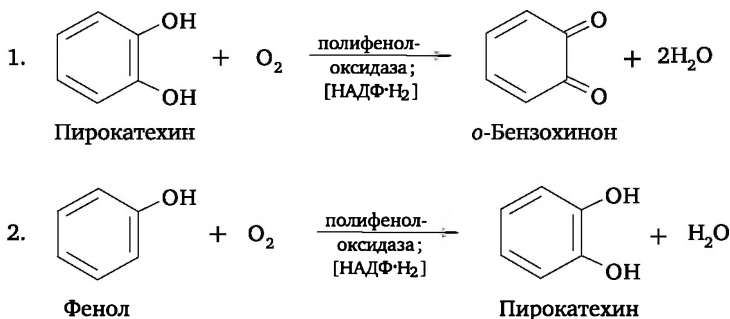
## 5.5. «Прямые» оксидазы

Если окислительные реакции, протекающие через дегидрирование, связаны в основном с процессами освобождения и запасаения в виде АТФ химической энергии, заключенной в пищевых продуктах, то процессы прямого окисления субстратов молекулярным кислородом обусловлены различными специфическими функциями клетки.

Ферментативное окисление молекулярным кислородом катализируется **оксигеназами**. Некоторые из них выступают в качестве **аэробных дегидрогеназ** — отщепляя от субстрата водород, они превращают его в воду или пероксид водорода. Другие обеспечивают внедрение в молекулу субстрата двух атомов кислорода, сопряженное в ряде случаев с расщеплением ароматических или алициклических колец.

Оксигеназы **третьего типа**, называемые **гидроксилазами**, внедряют в субстрат один из двух атомов молекулы кислорода. Второй атом кислорода при этом используется для окисления НАД·Н<sub>2</sub>, или НАДФ·Н<sub>2</sub>, или какого-либо другого вещества, выступающего в качестве косубстрата.

Типичными представителями оксигеназ являются **полифенолоксидазы** (фенолоксигеназы) способные, с одной стороны, окислять ди- и тригидроксibenзолы (фенолы), например пирокатехин, а с другой — внедрять атом кислорода в ядро фенола.



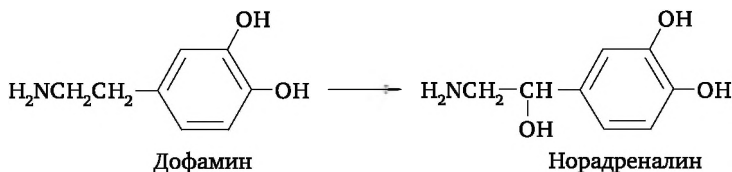
Полифенолоксидазы представляют собой медьсодержащие белки, встречаются в чайном листе ( $M = 144\,000$ ), в грибах ( $M = 34\,500$ ) и во многих высших растениях.

Предполагается, что окислительно-восстановительное равновесие



с участием полифенолоксидазы имеет место в дыхании растений.

Фенолок시다за **дофамингидроксилаза** млекопитающих катализирует превращение дофамина в норадреналин:

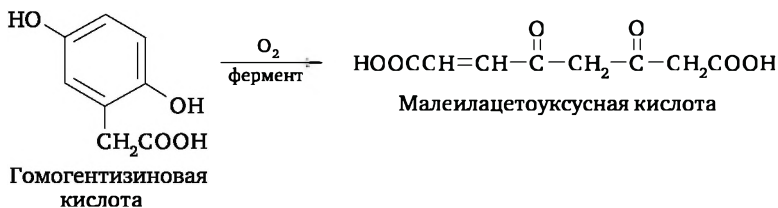


Косубстратом в этой реакции служит аскорбиновая кислота, окисляемая до дегидроаскорбиновой кислоты.

Из печени крысы выделена **фенилаланингидроксилаза**, катализирующая превращение аминокислоты *L*-фенилаланина в *L*-тирозин.

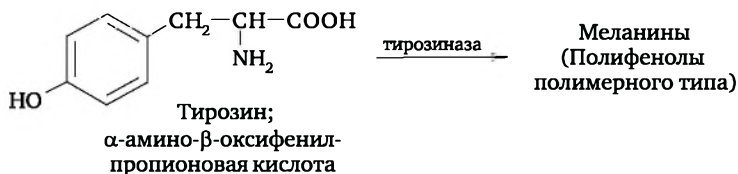
Гидроксилазы катализируют многие реакции микросомального окисления, особенно в печени, функция которых состоит в обмене и обезвреживании ряда ароматических соединений.

Оксигеназа печени — **гомогенизатоксигеназа** — катализирует расщепление бензольного кольца **гомогенизиновой кислоты** с прямым присоединением двух атомов кислорода и образованием **малеицетоксусной кислоты**:



Аналогично расщепляется миоинозит с образованием глюкуроновой кислоты.

Вариантом полифенолоксидазы является **тирозиназа**, окисляющая тирозин с образованием темно-окрашенных соединений — **меланинов**:

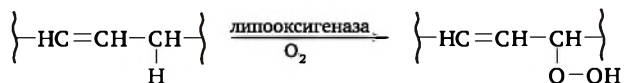


Тирозин и пирокатехин могут также окисляться с образованием меланинов под влиянием полифенолоксидазы.

Действием **тирозиназы** объясняется потемнение разрезанных яблока и картофеля, а также макарон, плодов и овощей при сушке.

В растениях широко распространен фермент **липооксидаза** (липооксигеназа), обуславливающий окисление кислородом воздуха некоторых ненасыщенных длинноцепных жирных кислот и образующих ими сложных эфиров, в частности жиров.

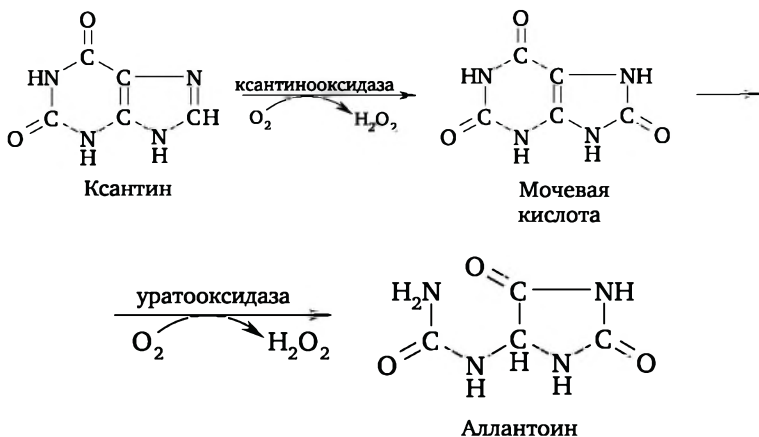
Липооксигеназа сои — это глобулин ( $M = 102\ 000$ ), содержащий железо. Особенно он эффективен при окислении линолевой и линоленовой кислоты. Окисление направлено на самые подвижные в гомолитическом отношении атомы водорода в  $\alpha$ -положении к олефиновым связям и приводит к образованию гидропероксидов:



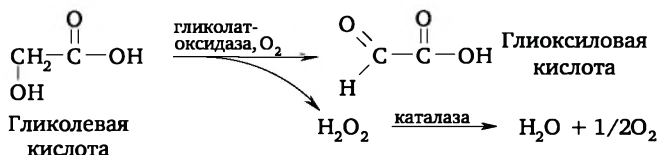
Образующиеся гидропероксиды являются сильными окислителями, окисляющими олефиновые связи полиенов (каротиноидов, витамина А, алкенильных фрагментов жирных кислот), хлорофилл, аскорбиновую кислоту и другие субстраты. Кроме того, распадаясь на радикалы, гидропероксиды способны инициировать радикальные цепные процессы окислительной деструкции биологических молекул, в том числе макромолекул.

Липоксигеназа разрушает каротин в процессе сушки и хранения растительных продуктов, а также обуславливает прогоркание масел, круп и муки.

К группе «прямых» оксигеназ относится **уратооксидаза** (уриказа). Она превращает в аллантаин мочевую кислоту, которая, в свою очередь, является продуктом метаболизма пуриновых оснований под действием **ксантинооксидазы**:



В растениях содержится оксидаза гликолевой кислоты — **гликолатоксидаза**:



Эта реакция осуществляется в процессе фотосинтеза.

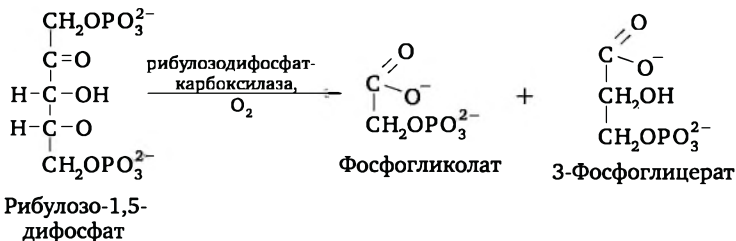
Кофактором гликолатоксидазы является флавиномононуклеотид (ФМН).

Фермент **аскорбинатоксидаза**, представляющий собой медьсодержащий белок, осуществляет окисление молекулярным кислородом аскорбиновой кислоты в дегидроаскорбиновую (см. с. 31).

Особенно активна аскорбинатоксидаза в капусте, тыкве и кабачках.

В плесневых грибах содержится фермент **глюкозооксидаза**, способная окислять глюкозу в глюконовую кислоту, проявляя при этом высокую субстратную селективность. Глюкозооксидаза ( $M = 186\,000$ ) содержит две молекулы флавинадениндинауклеотида (ФАД) и 15 масс. % углеводов.

Интересно отметить, что фермент из класса лиаз **рибулозодифосфаткарбоксилаза** способен не только катализировать реакцию расщепления рибулозо-1,5-дифосфата, сопряженную с карбоксилированием образующихся фрагментов, но и вступать в конкурирующую реакцию с молекулярным кислородом. В оксигеназной реакции фосфорилированная рибулоза расщепляется на фосфогликолат и 3-фосфоглицерат:



Эта реакция играет важную роль в регуляции фотосинтеза и фотодыхания.

Как показано выше, в реакциях прямого окисления субстратов кислородом зачастую образуется пероксид водорода, который для клетки весьма токсичен и должен удаляться. В этой связи заслуживают внимания два фермента прямого биологического окисления — **каталаза** и **пероксидаза**. Биологическая функция каталазы заключается в разложении пероксида водорода:



По сути эту реакцию можно рассматривать как окисление одной молекулы  $\text{H}_2\text{O}_2$  другой молекулой.

Каталаза — это гемопроteid, встречающийся в тканях животных и растений, где происходят процессы клеточного дыхания с участием цитохромов. У анаэробных бактерий каталаза не обнаружена.

**Пероксидаза** катализирует окисление субстратов ( $\text{Sub} \begin{smallmatrix} \text{H} \\ \text{H} \end{smallmatrix}$ ) с участием  $\text{H}_2\text{O}_2$ :



Пероксидаза содержится в слюне, соке поджелудочной железы, печени, лейкоцитах, в корне хрена, в млечном соке растений. Выделена и охарактеризована пероксидаза хрена (гемопроteid,  $M = 40\,000$ ).

Ферментативные окислительно-восстановительные реакции лежат в основе **биологической люминисценции**, характерной для некоторых видов светляков, червей, рыб, микроорганизмов и растений (сапрофитных грибов).

### Вопросы и задания для самоконтроля

1. Какие классы соединений являются источником энергии для обмена веществ?
2. Какие макроэнергетические связи и в каких соединениях служат носителями биоэнергии?
3. Чем отличаются субстратное и окислительное фосфорилирование?
4. Охарактеризуйте два механизма ферментативного окисления: анаэробный и аэробный. В чем заключаются их общие признаки и различия? Какова их энергетическая эффективность?
5. Каковы природа и физиологическая функция цитохромов и других конечных оксидаз?

## Глава 6

# УГЛЕВОДЫ — СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА, БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

### 6.1. Наиболее важные представители — строение и свойства

Углеводами называются полиоксиальдегиды, полиоксикетоны и простые эфиры на их основе, образованные за счет отщепления молекулы воды от двух гидроксильных групп вступающих во взаимодействие молекул. Углевод, который нельзя превратить гидролизом в более простое соединение, называется **моносахаридом**. Различают моносахариды, **олигосахариды**, заключающие в себе от двух до 10 звеньев моносахаридов, и **полисахариды**, цепи которых могут включать десятки тысяч звеньев моносахаридов.

Источником углеводов на Земле является фотосинтез на основе  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  в зеленых растениях. В свою очередь, углеводы являются предшественниками всех углеродных органических соединений живой и неживой (нефти, газа, угля) материи.

Углеводы входят в состав всех живых организмов, составляя около 80 % массы сухого вещества растений и около 2 % сухого вещества животных организмов. Углеводы — важнейший компонент пищи животного и человека. В суточный рацион человека должно быть включено 450—500 г углеводов с энергосодержанием порядка 9200 кДж.

Распад и окисление углеводов в организмах обеспечивают высвобождение, накопление и использование биоэнергии. Главными источниками энергии являются **глюкоза**, **фруктоза**, **дисахариды** (сахароза, лактоза, галактоза), **крахмал** и **гликоген** (животный крахмал).

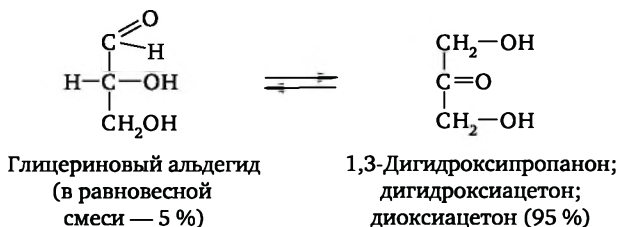
Углеводы в 2,5 раза менее энергоемки, чем жиры, однако для некоторых типов клеток, в частности для нейронов мозга, углеводы незаменимы. Кроме того, углеводы выступают в качестве структурно-функциональных элементов клеток (гликолипидов, гликопротеинов), нуклеиновых кислот, ферментов, коферментов и других биомолекул. Углеводы группы **мукосахаридов** входят в состав различных слизей слюны, желудочного сока, семенной плазмы и дру-

гих биологических жидкостей. Глюкоза может превращаться в организме в аминокислоты и липиды.

Обмен углеводов является составной частью кругооборота веществ в природе, поскольку конечными продуктами их распада в организмах являются  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , которые вновь включаются в планетарный процесс фотосинтеза.

### 6.1.1. Моносахариды

Моносахарид, содержащий наряду с гидроксильными группами альдегидную группу, называется **альдозой**, а кетогруппу — **кетозой**. В зависимости от количества атомов углерода в молекуле моносахарид может называться **триозой**, **тетрозой**, **пентозой**, **гексозой** и т. д. Так, **альдогексоза** — это моносахарид с шестью атомами углерода, содержащий альдегидную группу, **кетопентоза** — с пятью атомами углерода и кетогруппой. Простейшими из углеводов являются таутомерные триозы — глицериновый альдегид и дигидроксияцетон.



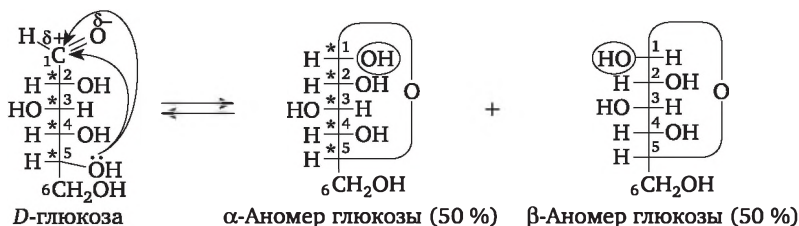
Отметим некоторые наиболее важные особенности моносахаридов, необходимые для описания и понимания их биохимии.

Свойства моноз обусловлены наличием **гидроксильных** и **карбонильной** (альдегидной или кетонной) групп. В частности, гидроксильную группу как носитель нуклеофильных свойств можно алкилировать, ацилировать, замещать на галоген и аминогруппу.

Оксогруппы сообщают сахарам все свойства альдегидов или кетонов, в том числе способность к **кето-енольной таутомерии**, присоединению нуклеофильных реагентов ( $\text{ROH}$ ,  $\text{RNH}_2$ ,  $\text{NH}_2\text{NH}_2$  и др.), окислению и восстановлению. В частности, кето-енольная таутомерия обуславливает взаимное превращение в растворе представленных выше глицеринового альдегида и диоксикетона, а также глюкозы, фруктозы и маннозы.

Вместе с тем, благодаря своему строению монозы обладают рядом **специфических** свойств. Например, моноза может обратимо присоединить к оксогруппе собственную спиртовую группу с образованием циклического **полуацетала** (кольчато-цепная таутомерия).

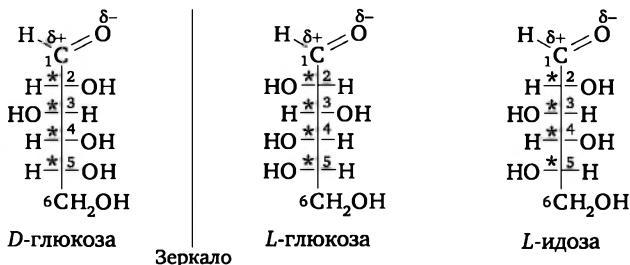




Чаще всего образуются пяти- и шестичленные циклы, что позволяет называть монозы соответственно фуранозами и пиранозами.

В пользу **циклической структуры** моноз свидетельствуют данные стереохимии. Так, для линейной формы гексозы, обладающей четырьмя асимметрическими атомами углерода (отмечены звездочками), можно было бы ожидать существование 16 ( $2^4$ ) стереоизомеров. На деле же обнаруживается 32 (т. е.  $2^5$ ) изомеров, что указывает на наличие в молекуле пяти асимметрических атомов. Как видно, циклизация монозы увеличивает число асимметрических атомов на единицу.

Напомним, что отнесение моносахарида к  $D$ - или  $L$ -ряду асимметрических соединений осуществляют по конфигурации последнего асимметрического атома углерода, сравнивая ее с конфигурацией принятых за стандарт  $D$ - и  $L$ -изомеров (энантиомеров) глицеринового альдегида. Необходимо, однако, подчеркнуть, что различие между  $D$ - и  $L$ -глюкозами заключается не только в положении Н- и ОН-групп у пятого атома углерода. Их молекулы относятся друг к другу, как предмет к своему зеркальному отражению. Простое же изменение конфигурации атома С-5 приводит к получению не  $L$ -глюкозы, а совершенно другого соединения —  $L$ -идозы.

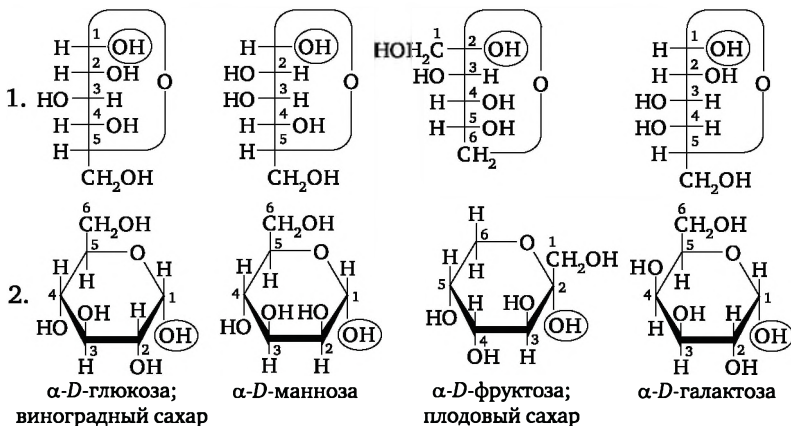


**Гидроксил**, возникающий вследствие циклизации молекулы моносахарида на основе карбонильного кислорода (обведен кружком), называется полуацетальным, или **гликозидным** (в случае глюкозы — **глюкозидным**). Далее полуацетальный гидроксил может легко замещаться на алкоксильный радикал с образованием **ацеталя**. Продукты замещения атома водорода гликозидного гидроксила на алкильный радикал (в том числе и несущий различные

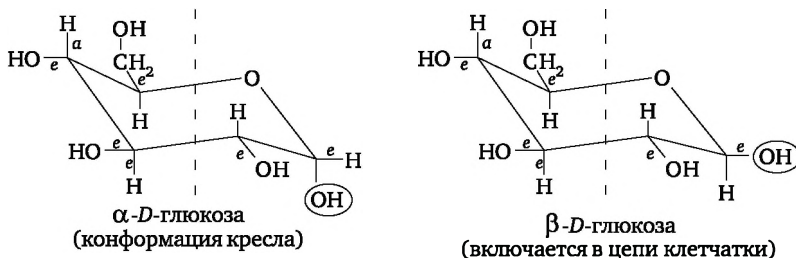
функциональные группы) получили название **гликозидов**. Сам радикал при этом называется **агликоном**.

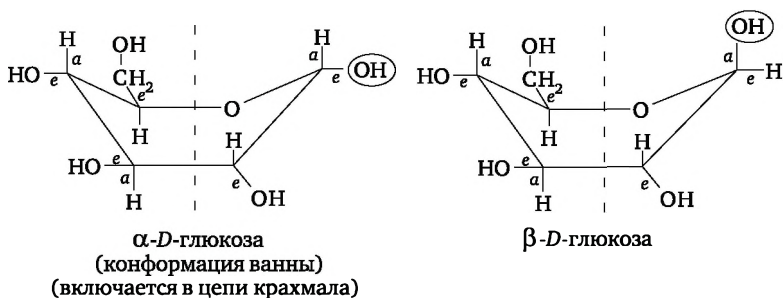
**Атака** одной из гидроксильных групп монозы на собственную карбонильную группу **равновероятна с обеих сторон**, так как последняя имеет плоскостную конфигурацию. Поэтому при циклизации монозы, как показано выше, образуются два изомера (**диастереомера**) (50 × 50 %), отличающиеся лишь конфигурацией атома углерода исходной карбонильной группы. Эти диастереомеры называются **аномерами** и обозначаются как **α-** и **β-формы** (α- и β-аномеры). α-Аномером монозы называют тот изомер, у которого конфигурация первого атома углерода (бывшего карбонильного) такая же, как у асимметрического атома D-глицеринового альдегида (или у пятого атома углерода гексоз).

Положение заместителей в монозах указывается с помощью формул (проекции) **Фишера** (1) или перспективных **формул Хеуорса** (2):



Заместители, располагающиеся в (1) справа, изображаются в (2) внизу. Формулы Хеуорса и, тем более, Фишера не отражают истинной геометрической формы молекул. Шестичленный цикл монозы, как и в молекуле циклогексана, существует преимущественно в **конформациях кресла** или **ванны**:

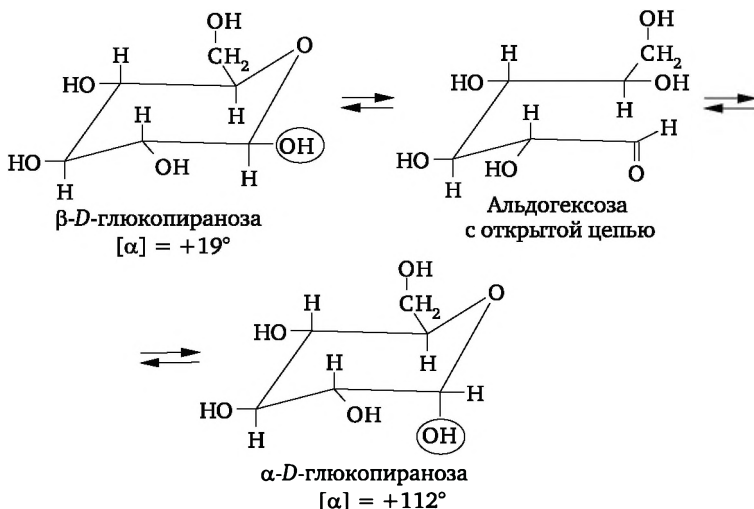




При этом молекула стремится принять такую конформацию, в которой максимальное число наиболее объемных заместителей находится в **экваториальных** положениях (е).

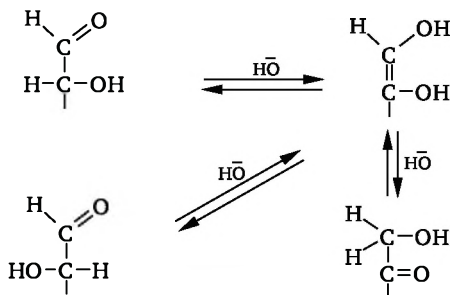
Кольчато-цепная таутомерия как обратимый динамический процесс объясняет явление **мутаротации**, т. е. **медленного изменения оптического вращения свежеприготовленного раствора** кристаллического моносахарида до достижения постоянной величины. Например, кристаллическая D-глюкоза существует в двух формах — с удельным вращением  $[\alpha]$ , равным  $+112^\circ$  и  $+19^\circ$ . При растворении в воде оптическое вращение обеих форм изменяется и достигает значения  $+35^\circ$ .

Причиной мутаротации является изменение конфигурации «бывшего» карбонильного атома углерода вследствие таутомерных превращений, т. е. попеременного раскрытия и замыкания цикла. Как уже отмечалось, замыкание цикла приводит к образованию как  $\alpha$ -, так и  $\beta$ -формы:



Глюкоза и манноза являются примером двух изомеров, различающихся лишь конфигурацией второго атома углерода, и называются **эпимерами**.

В щелочной среде возможны взаимопревращения эпимеров, обусловленные проявлением keto-енольной таутомерии:



Взаимное превращение глюкозы и маннозы во **фруктозу** показывает, что конфигурация третьего, четвертого и пятого атомов углерода в молекулах этих трех моносахаридов одна и та же.

Моносахариды широко распространены в природе.

**D-глюкоза (виноградный сахар)** содержится в винограде, фруктовых плодах и корневищах растений, входит в состав меда, содержится в организмах животных (в крови, лимфе, спинномозговой жидкости и т. д.).

Связанная глюкоза находится в свекловичном (тростниковом) сахаре, крахмале, клетчатке и других полисахаридах.

На практике глюкозу обычно получают сернокислотным гидролизом крахмала при кипячении. Серную кислоту нейтрализуют известью или мелом, раствор фильтруют, упаривают под вакуумом и выкристаллизовывают глюкозу. Глюкоза кристаллизуется с молекулой воды ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), плавится при  $146^\circ\text{C}$ .

В медицине используют 10, 20 и 40%-ные растворы чистой глюкозы. На основе ее растворов готовят препараты аскорбиновой кислоты, сорбита и т. д. Изотонический раствор глюкозы (5,5%-ный), характеризующийся таким же осмотическим давлением, как и кровь, используется для приготовления инъекций лекарственных препаратов.

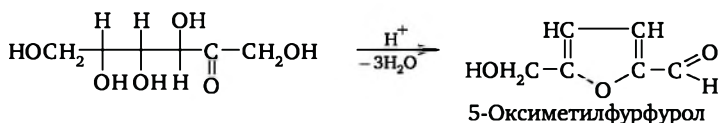
**D-(-)-фруктоза (плодовый сахар)** в свободном состоянии встречается в плодах, пчелином меде (до 45 %). Фруктоза входит в состав дисахарида **сахарозы** и полисахарида **инулина**. Из простых углеводов она самая сладкая — в 1,85 раза слаще глюкозы и в 1,3 раза — сахарозы.

Фруктоза — промежуточный продукт метаболизма глюкозы (гликолиза) и гликогена — животного крахмала (гликогенолиза).

При недостатке в организме инсулина — гормона поджелудочной железы, участвующего в регуляции углеводного обмена, наблюдаются повышение уровня глюкозы в крови, понижение количества гликогена в печени и другие признаки болезни диабета. В этом случае в рационе питания снижают содержание глюкозы и ее источников, в частности крахмала, замещая их на фруктозу или полисахарид на ее основе — инулин.

Понятно, что для человека, предрасположенного к диабету, мед, содержащий инвертный сахар, полезнее, чем сахароза и другие олигомерные и полимерные формы глюкозы.

Фруктоза не устойчива к нагреванию, действию кислот и оснований. При нагревании в кислой среде она циклизуется с образованием производного **фурфуrolа**:



Эта реакция лежит в основе метода идентификации фруктозы.

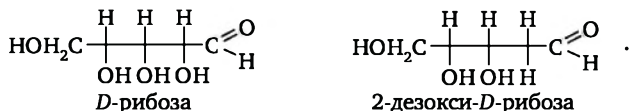
Близким по структуре *D*-фруктозе является ее *L*-аналог — ***L*-сорбоза**, важнейшим производным которой является **аскорбиновая кислота** — витамин С (антискорбутный витамин).

***D*-(+)-галактоза (цереброза)** входит в состав дисахарида лактозы (молочного сахара), трисахарида раффинозы, полисахарида агар-агара, гуммиарабика, является составной частью липидов нервной ткани и гликопротеидов.

Галактоза под действием ферментов может превращаться в глюкозу, используется в пищевой промышленности и в качестве компонента питательных сред для некоторых микроорганизмов.

***D*-(+)-манноза** входит в состав сложных углеводов, обнаруживается в сыворотке крови, белках слюны, слизи кишечника. Манноза сбраживается дрожжами.

***D*-рибоза** и ***D*-дезоксирибоза** входят в состав соответственно рибонуклеиновых и дезоксирибонуклеиновых кислот (РНК и ДНК):



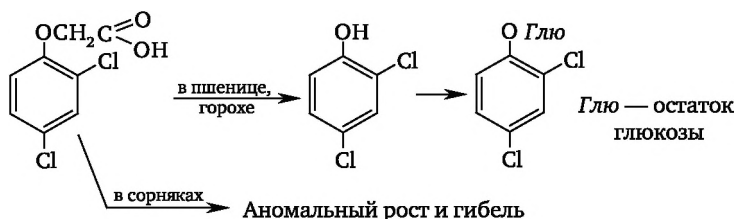
В растительном мире широко распространены гликозиды, преимущественно образованные на основе β-*D*-глюкозы. Несахарная компонента — **агликон**, как правило, имеет сложное строение.

Молекулы глюкозы и других сахаров делают растворимыми многие биомолекулы, образуя на их основе **глюкозиды**. В качестве

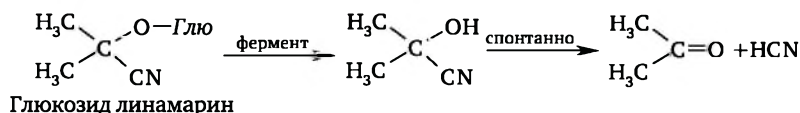
агликонов могут выступать фрагменты **алкалоидов** (например, в алкалоиде картофеля соланине); **красящих пигментов**, например флавоноидов; **полиоксипроизводных многоядерных ароматических углеводородов** (в дубильных веществах, танинах); продуктов биохимической модификации **ксенобиотиков** (чужеродных веществ, поступающих в организм извне) и т. д.

В растительных и животных клетках присутствуют достаточно эффективные системы **детоксикации** чужеродных соединений. В клетке животного основным путем детоксикации является образование **глюкоурида** или **этерифицированного сульфата**, которые выводятся из организма с мочой. В растительных же клетках образуются преимущественно **глюкозиды**, изолируемые в клеточных вакуолях.

**Глюкозирование** имеет место в процессах метаболизма пестицидов. Так, положительный эффект использования избирательного гербицида **2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-D)** в борьбе с сорняками обусловлен тем, что сельскохозяйственные культуры способны быстро ее метаболизировать, а сорняки такой способностью не обладают и погибают. Наряду с конъюгацией с аспариновой кислотой по карбоксильной группе, а также гидроксилированием ароматического кольца, **2,4-D** может претерпевать превращения с образованием глюкозида:



В растительном мире часто встречаются **цианогенные гликозиды**, выделяющие при гидролизе цианистый водород, который, как известно, токсичен для широкого спектра организмов в связи с тем, что он является **ингибитором** железосодержащих ферментов **цитохромов** в дыхательной цепи.



Источниками **HCN** являются семена горького **миндаля**, содержащие гликозид **амигдалин**, клевер, **лядвенец** и др.

В настоящее время выделено из микробов и растений, а также синтезировано в лабораториях множество моносахаридов, в которых одна или несколько гидроксильных групп замещены другими

группировками. Большое биологическое значение имеют **аминосахара**, в которых одна группа ОН замещена первичной аминогруппой, во многих случаях ацетилированной. Примером могут служить 2-аминосахара. Так, глюкозамин и галактозамин входят в состав многих полисахаридов: **хитина**, из которого ракообразные и насекомые строят свой наружный покров; **гепарина**, препятствующего свертыванию крови в организме человека, и др.

Характерно, что 5-аминосахара существуют не только в оксоформе, но и в виде азотистых гетероциклических структур (пиперидинов), способных, в свою очередь, дегидратироваться с образованием **производных пиридина**.

Известно множество аналогов О-гликозидов — **N-алкилгликозидов**, в которых агликон связан с монозой не через атом кислорода, а через атом азота. К ним относятся, в частности, **нуклеотиды**, являющиеся структурными звеньями **коферментов** (НАД, ФАД) и **нуклеиновых кислот**.

К производным моносахаридов относятся природные соединения — **сахарные кислоты**: альдоновые, уроновые и альдаровые.

**Альдоновые кислоты** образуются при окислении альдегидной группы альдоз. В частности, окисление глюкозы с образованием глюконовой кислоты имеет место в пентозофосфатном цикле.

**Уроновые кислоты** — продукты окисления первичной гидроксильной группы, т. е. находящейся у последнего атома углерода альдоз. В растительном и животном мире широко распространена **глюкуроновая кислота**. Она входит в состав полисахаридов соединительной ткани в организмах животных, глюкопротеидов крови, камедей. В животном организме глюкуроновая кислота связывается с токсическими веществами, в частности с продуктами распада белков, лекарственными препаратами, и образует эфиры, которые выводятся с мочой.

**Галактуроновая кислота** — продукт окисления концевой (первичной) группы ОН галактозы — участвует в построении пектинов, растительных и некоторых бактериальных полисахаридов.

**Альдаровые кислоты** образуются при окислении как альдегидной, так и концевой спиртовой группы.

В природе широко распространены **полиолы**: сорбит (глюцит), дульцит (галактит), маннит, рибит, — которые являются продуктами восстановления соответственно глюкозы, галактозы, маннозы и рибозы.

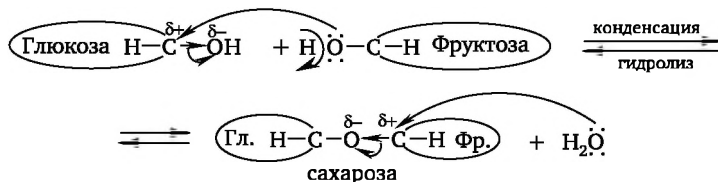
В частности, значительные количества сорбита содержатся в ягодах и фруктах (яблоках, грушах, сливах, абрикосах и др.).

### 6.1.2. Олигосахариды. Дисахариды

К олигосахаридам относятся ди-, три-, тетра- и другие низкомолекулярные полисахариды, содержащие до 10 звеньев моносахаридов.



По существу олигосахариды — это **простые полиэфиры**, в которых связи С–О–С (гликозидные связи) образуются за счет отщепления молекулы воды от двух гидроксильных групп — полуацетальных (гликозидных) или спиртовых (в гексозах — чаще всего в положениях 4 или 6) по схеме:

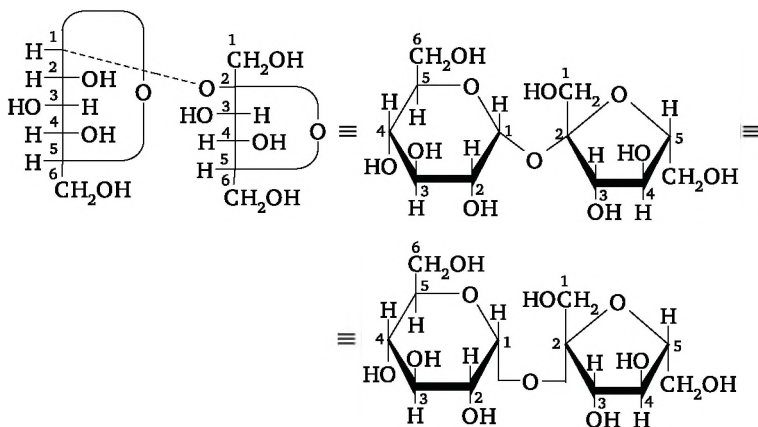


**Дисахариды** (биозы) можно разделить на две основные группы:

1) **гликозидогликозиды**, не дающие реакций на оксогруппу (с гидроксиламином, HCN, фелинговой жидкостью, аммиачным раствором оксида серебра и др.). Такие сахара называются **нередуцирующими**, т. е. лишенными восстановительных свойств;

2) **гликозидомонозы**, дающие указанные реакции на карбонильную группу в соотношении 1 моль реагента на 1 моль дисахарида, т. е. с участием одной половины молекулы (такие сахара относятся к типу **редуцирующих**).

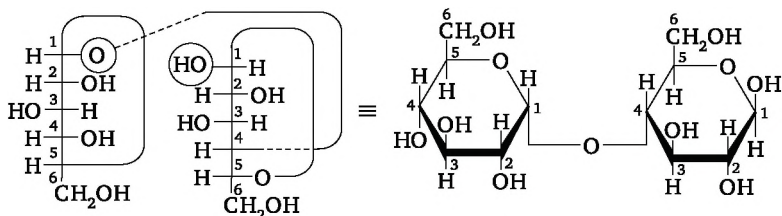
Ясно, что в дисахаридах первой группы в образовании простой эфирной связи участвуют **обе гликозидные гидроксильные группы**, вследствие чего их таутомерный переход в карбонильные группы в растворе не реализуется.



**Сахароза**, или α-глюкозидо-β-фруктозид,  
или О-α-D-глюкопиранозил-(1,2)-β-D-фруктофуранозид  
(свекловичный или тростниковый сахар)



Биозы второй группы образуются с участием гликозидного и спиртового гидроксильных:



$\beta$ -Мальтоза;

O- $\alpha$ -D-глюкопиранозил-(1,4)- $\beta$ -D-глюкопираноза (солодовый сахар)

Символ  $\beta$  в тривиальном названии ( $\beta$ -мальтозы), как и символ  $\alpha$  в  $\alpha$ -лактозе указывает на положение гликозидного гидроксильного, не задействованного в образовании простого эфира связи биозы.

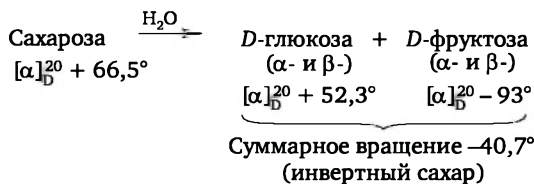
**Сахароза** — это один из самых распространенных в природе дисахаридов. Он содержится в листьях, стеблях и корнях растений, в семенах, в ягодах и фруктах. В частности, в корнеплодах сахарной свеклы содержится до 29 % сахара, а в стеблях сахарного тростника — около 20 %.

Сахароза хорошо растворима в воде, особенно при нагревании. Фактором, определяющим растворимость сахарозы, как и других углеводов, является сольватация индивидуальных молекул преимущественно за счет водородных связей множества гидроксильных групп.

Сахароза играет важнейшую роль в питании человека.

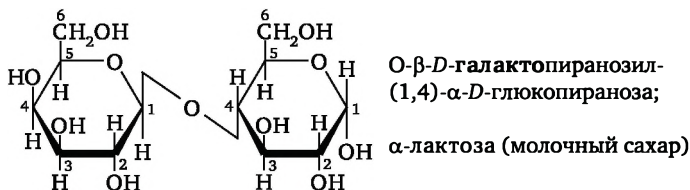
Чистая сахароза плавится при 160 °C. При более высокой температуре она бурно и застывает, образуя прозрачную массу — **кармель**.

При нагревании с кислотами, также под действием фермента **сахаразы** (инвертазы) сахароза гидролизует с образованием смеси D-глюкозы и D-фруктозы, что сопровождается обращением направления вращения плоскости поляризованного луча — **инверсией**. По этой причине продукты гидролиза называются **инвертным сахаром**.



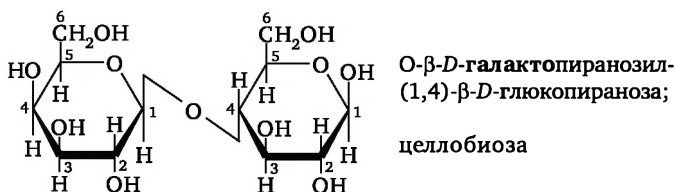
Характерно, что сахароза гидролизует в кислом растворе в 1000 раз быстрее, чем мальтоза или лактоза.

**Мальтоза** в свободном виде не встречается, образуется при неполном гидролизе крахмала под влиянием фермента **диастазы**, является промежуточным продуктом в винокурной и пивоваренной промышленности. При действии фермента **мальтазы** она гидролизуется с образованием двух молекул  $\alpha$ -глюкозы.

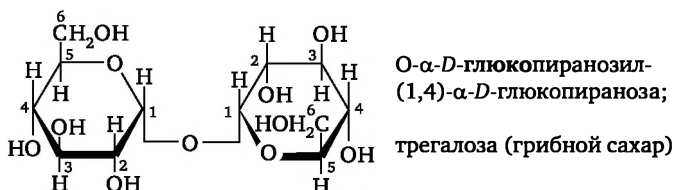


Как редуцирующий углевод **лактоза** восстанавливает фелингову жидкость, содержится в молоке животных и человека. Получают лактозу из коровьего молока, в котором ее содержание достигает 4—5 %. Кристаллы лактозы ( $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$ ) выделяют выпариванием сыворотки — отхода сыродельного производства.

Лактоза в 4—5 раз менее сладкая, чем сахароза, представляет собой ценное питательное вещество, особенно для грудных детей, применяется для диетического питания.



**Целлобиоза** является структурной единицей полимерной цепи целлюлозы (клетчатки). В свободном виде она образуется при ферментативном гидролизе целлюлозы под действием фермента **целлюлазы**, продуцируемого микроорганизмами, содержится в соке (пасоке) некоторых деревьев. Целлобиоза обладает свободным гликозидным гидроксильным группом и поэтому восстанавливает фелингову жидкость, в водных растворах обнаруживает мутаротацию.



Трегалоза лишена свободного гликозидного гидроксила и поэтому не восстанавливает фелинговую жидкость. Содержится в грибах, водорослях, некоторых высших растениях. В пекарских дрожжах содержание трегалозы достигает 18 % на сухое вещество.

Известны также дисахариды со связями по двум спиртовым гидроксилам.

Положение гидроксильных групп моноз, участвующих в образовании простозфирной связи биозы, например, (1,2) или (1,4), может изображаться в названии символами (1→2) и (1→4) соответственно.

Для облегчения записи названия олигосахаридов используют, как и в случае пептидов, сокращенные названия фрагментов моносахаридов, например:

Glc — глюкопираноза

Gal — галактопираноза

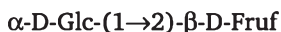
Fru — фруктопираноза

Rib — рибопираноза

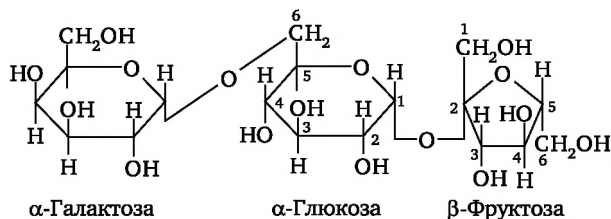
Fruf — фруктофураноза

GlcNAc — N-ацетилглюкозамин

В терминах такой номенклатуры название сахарозы приобретает вид



Примером **трисахара** является раффиноза (мелитриоза):



**Раффиноза** содержится в сахарной свекле, в семенах хлопчатника, в засохших выделениях эвкалипта. Накапливается в больших количествах в мелассе при производстве свекловичного сахара. Содержание раффинозы в свекле возрастает в процессе ее хранения.

В луковичах и корнях ряда растений, в семенах бобовых содержится нередуцирующий тетрасахарид — **стахиоза**, состоящая из двух молекул галактозы, одной молекулы глюкозы и одной — фруктозы.

Многие моно- и дисахариды обладают **сладким вкусом**.

Вкусовые ощущения человека упрощенно можно разделить на четыре основных типа: **соленое, кислое, горькое и сладкое**. Они возникают благодаря рецепторам, расположенным на специальных бугорках языка, и основаны на молекулярном взаимодействии вещества

с белковой матрицей рецепторов. Как и в случае ферментативных реакций, эти взаимодействия в высокой степени зависят от структурных особенностей молекул воздействующего вещества. Так,  $\alpha$ -D-манноза сладкая, в то время как  $\beta$ -D-манноза горькая на вкус, хотя отличаются они лишь конфигурацией атома углерода C-1:



$\beta$ -D-фруктопираноза слаще ее изомера  $\beta$ -D-фруктофуранозы.

Сладкими на вкус являются дисахариды: мальтоза, лактоза и ген-тибиоза. В то же время трисахарид раффиноза — безвкусный.

О сравнительной сладости некоторых углеводов и их производных свидетельствуют данные табл. 6.1.

Таблица 6.1

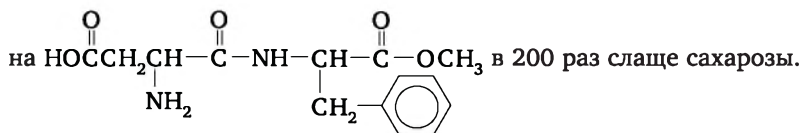
Оценка сладости ряда углеводов и их производных в сравнении с сахарозой

Соединение	Относительная сладость	Соединение	Относительная сладость
Сахароза	100	Глицерин	48
Фруктоза	137	Ксилоза	40
Глюкоза	74	Мальтоза	32
Инвертный сахар	130	Галактоза	32
Сорбит	48	Лактоза	16

В растениях найдены очень сладкие вещества из ряда гликозидов. Так, в листьях стевии (*Stevia rebaudiana*) обнаружен гликозид дитерпена — **стевиозид**, рассматриваемый как потенциальный заменитель сахарозы, в 300 раз уступающей ему в сладости и характеризующейся высокой калорийностью. Стевиозид, однако, обладает тем недостатком, что после него во рту сохраняется лакричный привкус.

Терапевтическое действие **солодкового корня** обусловлено **глицирризином**, который в чистом виде в 50 раз слаще сахара. Глицирризин является К- и Са-солью гликозида, образованного ди-глюкоурином и полициклической тритерпеноидной (**глицирретиновой**) кислотой.

Сладким вкусом обладают некоторые **аминокислоты**, **пептиды** и **белки**. Так, метиловый эфир дипептида аспаргина и фенилalani-

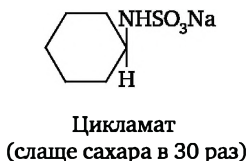
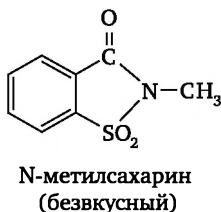


В плодах некоторых африканских растений обнаружены сладкие белковые вещества: **монелин**, **серендип** и **тауматин**. Последние два превосходят по сладости сахарозу соответственно в 3000 и 5000 раз.

Характерно, что степень сладости может зависеть от вторичной и третичной структуры белка. Например, при денатурации монелина в растворе (при 70—75 °C) сладкий вкус исчезает.

Интересно отметить, что гликопротеид миракулин, содержащийся в плодах одного из тропических растений, не обладает сладким вкусом, но изменяет вкус кислых продуктов на сладкий.

Из синтетических веществ со сладким вкусом, используемых в качестве заменителей сахара, хорошо известны **сахарин** (имид о-сульфобензойной кислоты) и **цикламат**. Обычно сахарин применяют в виде его натриевой соли, называемой **кристаллозой**.



Однако и эти заменители оставляют во рту неприятный привкус. Кроме того, существуют опасения, что при длительном употреблении они оказывают **мутагенный** эффект. В некоторых странах применение цикламата в качестве пищевой добавки уже запрещено.

### 6.1.3. Полисахариды

Полисахариды представляют собой природные высокомолекулярные вещества (молекулярная масса — от 20 000 до 10 000 000 и выше), построенные по типу биоз. При полном их гидролизе в кислой среде образуются монозы. Полисахариды, образующие при этом монозу одного типа (крахмал, клетчатка, инулин и др.), назы-

ваются гомополисахаридами, а состоящие из двух или более типов моноз — гетерополисахаридами.

Гомополисахариды: клетчатка, крахмал, гликоген — состоят из остатков глюкозы; инулин построен из блоков фруктозы.

К гетерополисахаридам относятся гемицеллюлозы (полуцеллюлозы) — полимеры растительного происхождения, имеющие разветвленную структуру. Исходя из названия моноз, образующих боковые ответвления или модифицирующих главную цепь полисахарида, различают маннаны (боковые цепи образуют за счет глюкозид-глюкозидных связей фрагменты маннозы), арабинаны (боковую цепь образует арабиноза), ксиланы, галактаны, фруктаны и т. д.

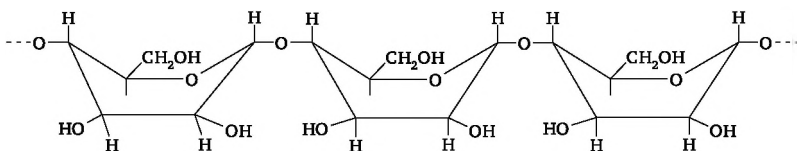
Одним из важнейших гомополисахаридов является крахмал. Крахмал — запасной углевод растений — депонируется в клубнях картофеля, зернах злаков и многих семенах. Он составляет весомую составную часть пищи человека. Содержание его в рисе — 78 %, в муке — 74 %, в белом хлебе — 51 %.

Крахмал не является индивидуальным веществом. Полисахариды крахмала состоят из двух фракций — амилозы (5—25 %) и амилопектина (75—95 %).

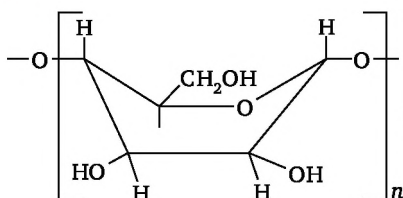
Амилоза включает в себе неразветвленные или малоразветвленные цепочки, содержащие около 200 остатков глюкозы и порядка 0,05 % фосфорной кислоты. Амилоза (растворимый крахмал) растворяется в горячей воде, дает с иодом синее окрашивание, легко гидролизруется ферментами ( $\alpha$ -амилазой) и кислотами до мальтозы и глюкозы.

Амилопектин представляет собой сильно разветвленные цепи, содержащие порядка 4000 остатков глюкозы и 0,25 % фосфорной кислоты. В горячей воде он не растворяется, но набухает и образует клейстер, иодом окрашивается в фиолетовый цвет.

Глюкозные остатки в неразветвленных частях полисахаридов крахмала имеют конформацию ванны и соединяются  $\alpha$ -1,4-глюкозид-глюкозными связями:



или



Амилоза ( $M \approx 60\,000$ )  
( $\alpha$ -1,4-глюкозид-глюкозные связи)

В местах разветвлений цепей образуются  $\alpha$ -1,6-, реже —  $\alpha$ -1,3-глюкозид-глюкозные связи.

Ваннообразная конформация  $\alpha$ -D-глюкопиранозных звеньев способствует **спирализации** полиглюкозидной цепи, фиксируемой водородными связями. По этой причине крахмал имеет форму микроскопических зрен.

На один виток спирали приходится 6—7 остатков глюкозы. В нише спирали полисахарида хорошо укладывается молекула иода, образуя соединение типа «гость-хозяин» (клатратное соединение). Молекула иода как кислота Льюиса, по-видимому, взаимодействует с электронодонорными гидроксильными группами.

Кратковременное нагревание крахмала (содержащего адсорбированную воду) приводит к его частичному гидролизу с образованием ряда низкомолекулярных полисахаридов (**декстринов**), более растворимых в воде.

Процессы декстринации и осахаривания крахмала используют в **спиртовой** и **пищевой** промышленности. Крахмал оптически активен ( $[\alpha]_D^{20} = +195^\circ$ ).

В желудочно-кишечном тракте человека и животных крахмал подвергается кислотному и ферментативному **гидролитическому** расщеплению до молекул глюкозы, используемой как энергетический источник, а также в процессах биосинтеза жиров, сложных белков, коферментов, нуклеотидов и т. д. Частично глюкоза депонируется в организме в виде гликогена печени и мышц.

Во время прорастания семян растений крахмал подвергается ферментативному расщеплению. Подсушенные и размолотые проросшие зерна ячменя (**солод**) содержат большое количество фермента (**диастазы**), ответственного за гидролиз крахмала, что позволяет использовать их для осахаривания крахмала картофеля или кукурузы в производстве спирта и пива. Получаемую таким образом **мальтозу** далее сбраживают.

**Гликоген** — полисахарид, содержащийся в тканях тел человека и животных, в грибах, дрожжах, в зерне сахарной кукурузы. Играет важную роль в обмене углеводов в организмах и дрожжах. При кипячении гликогена в подкисленных водных растворах, а в организмах — под влиянием ферментов гликогенфосфорилазы и  $\alpha$ -1,6-глюкозидазы образуется глюкоза. По строению гликоген близок к амилопектину, но отличается от него большей молекулярной массой и компактностью цепей и разветвлений.

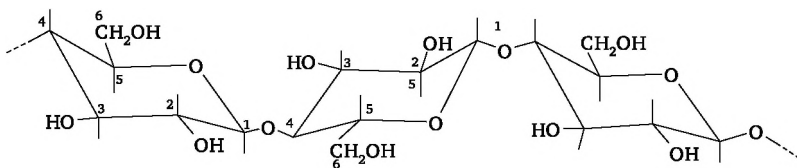
Гликоген растворяется в горячей воде, образуя опалесцирующие растворы, оптически активен ( $[\alpha]_D^{20} = +196^\circ$ ).

**Целлюлоза** (клетчатка) — нативные ВМС, содержащие до 10 000 звеньев глюкозы с молекулярной массой 500 000—20 млн — главный конструкционный материал растительных клеток. Достаточно чи-

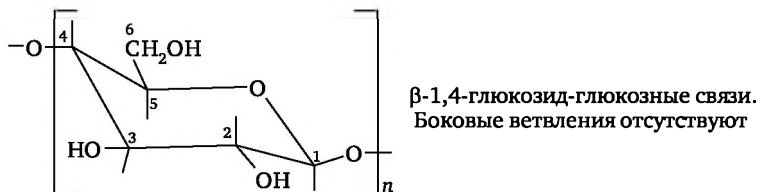


стая (до 90 %) природная клетчатка составляет основу волокна хлопка, ваты, фильтровальной бумаги.

Высокая прочность целлюлозы объясняется ее структурой. Полимерные цепи целлюлозы составляют кольца  $\beta$ -глюкозы в форме кресла, что обуславливает их линейное расположение, исключая возможность спирализации:



или



По рентгеноструктурным данным (Кучеренко Н. Е. и др. Биохимия. Киев: Выща школа, 1988) нитевидные молекулы целлюлозы, взаимодействуя друг с другом за счет водородных связей, образуют прочные мицеллы, которые, в свою очередь, объединяются в фибриллы. Набухание в воде и деполимеризация таких прочных структур весьма затруднены.

Целлюлоза устойчива к действию растворителей (воды, спирта, эфира и др.), но растворяется в  $\text{H}_2\text{SO}_{4\text{конц.}}$  и в аммиачном растворе оксида меди, содержащем комплекс  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}(\text{OH})_2$  (реакция Швейцера).

В растениях клетчатка модифицирована инкрустирующими веществами, в частности лигнином (ароматическими многоядерными соединениями фенольного типа). Для получения чистой клетчатки из древесины ее обрабатывают в автоклавах ( $p$ ,  $T$ ) раствором бисульфита кальция  $\text{Ca}(\text{HSO}_3)_2$ . Очищенную клетчатку отделяют и направляют на производство бумаги, а оставшийся сульфитный щелок, содержащий сахаристые вещества, используют для получения спирта. Более прочную клетчатку получают при замене  $\text{Ca}(\text{HSO}_3)_2$  смесью  $\text{NaOH}$  и  $\text{NaHSO}_3$ .

Автоклавным способом **осахаривают** и саму клетчатку ( $180^\circ\text{C}$ , давление, катализатор — 0,1 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Осахаривание одной тонны древесины позволяет получить 200 л гидролизного этилового



спирта. Процесс осахаривания можно проводить и на холоду при обработке измельченной древесины концентрированной соляной кислотой ( $d = 1,21 \text{ г/см}^3$ ). Получаемый продукт после удаления избытка  $\text{HCl}$  нагреванием и нейтрализации содой используют для кормления скота.

При гидролизе клетчатки в конечном счете образуется  $\beta$ -глюкоза. Однако бактерии, вызывающие спиртовое брожение, ассимилируют только  $\alpha$ -глюкозу. Тем не менее сбраживание продуктов гидролиза клетчатки возможно в связи с тем, что в растворах  $\alpha$ - и  $\beta$ -формы глюкозы существуют в таутомерном равновесии, и потребление бактериями дрожжей  $\alpha$ -формы приводит к пополнению ее запасов за счет изомеризации  $\beta$ -формы.

Возможен частичный гидролиз целлюлозы с образованием редуцирующего дисахарида целлобиозы.

В организме жвачных животных целлюлоза может гидролизываться до  $D$ -глюкозы за счет действия фермента **целлюлазы**, продуцируемого в рубце желудка.

В почве клетчатка разрушается на простые вещества под действием микроорганизмов, вызывающих, в частности, на дне стоячих вод **метановое брожение**.

**Инулин** — полисахарид, состоящий на 94—87 % из остатков молекул  $\beta$ -фруктозы, соединенных за счет гликозидных гидроксидов, является резервным энергетическим материалом многих растений (цикория, георгин, кок-сагыза и др.).  $M = 5000 \div 6000$ ,  $[\alpha]_D^{20} = -39^\circ$ . Инулин растворим в теплой воде, но из водных растворов осаждается спиртом. В растениях, плесневых грибах и дрожжах содержится особый фермент — **инулаза**, который расщепляет инулин с образованием фруктозы. В практических целях фруктозу получают кислотным гидролизом инулинсодержащего сырья.

Инулин сладок на вкус, используется в качестве заменителя сахара и крахмала при сахарном диабете.

Такие пентозы, как ксилоза, арабиноза и др., сами способны образовывать целлюлозоподобные полисахариды, называемые **пентозанами**. В частности, ксилозаном богаты кукурузные кочерыжки, солома, стебли подсолнухов. Гидролизом из них может быть получена ксилоза. Гидролиз пентозанов используют также для синтеза

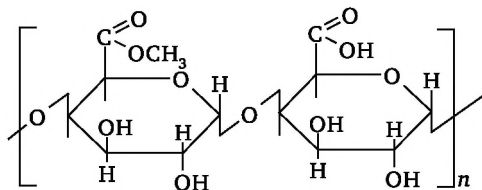
фурфура  — ценного полупродукта в производстве

пластмасс. Фурфурол образуется в результате потери пентозой трех молекул воды.

**Агар-агар** — полисахарид, состоящий преимущественно из звеньев  $D$ - и  $L$ -галактозы, частично этерифицированных серной кислотой. Он легко разбухает в воде, а при охлаждении превращается

в твердый гель. Его используют в микробиологии для приготовления питательных сред и в кондитерской промышленности.

В фруктах, ягодах, клубнях и стеблях растений обнаруживаются **пектины** — полимерные вещества, макромолекулы которых состоят из соединенных 1,4-гликозидными связями остатков **галактуроновой кислоты** и ее метиловых эфиров (степень метоксилирования — 30—80 %) (см. подп. 11.1.1).

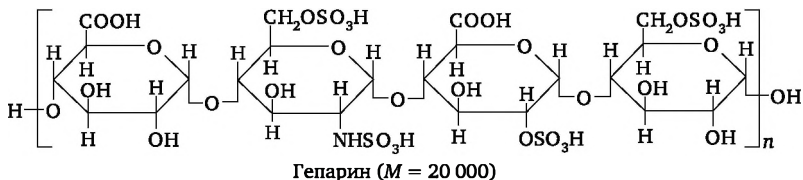


Среди пектинов выделяют **пектовую кислоту**, которая отличается сравнительно низкой молекулярной массой (число звеньев — до 100) и отсутствием сложноэфирных групп.

В природных объектах первоначально образуются нерастворимые комплексные соединения — **протопектины**, которые в процессе созревания плодов превращаются под воздействием фермента протопектиназы в растворимый пектин. Фруктовый пектин имеет молекулярную массу в пределах 25 000—50 000. При кипячении пектина с сахаром в присутствии органических кислот пектин образует **студни**, которые используются в кондитерской промышленности для приготовления мармелада, джема, пастилы и т. д.

В условиях получения яблочного сидра сбраживанием яблок сложноэфирные группы пектина гидролизуются, обогащая напиток метанолом, что делает **сидр** вредным при регулярном употреблении.

К высокомолекулярным гетерополисахаридам относятся **мукополисахариды**: гепарин, гиалуроновая и хондроитинсерная кислоты.



**Гепарин** препятствует сворачиваемости крови и широко используется в качестве антикоагулянта при переливании крови и для лечения тромбозов.

Мукополисахариды образуют комплексы с белками и входят в состав слизи (слюны, кишечного сока и т. д.).

**Хондроитинсерная кислота**, содержащая, как и гепарин, остатки эфиров серной кислоты, образует комплексы с белком коллагеном в хрящевой и костной ткани.

**Камеди** — сложные гетерополисахариды разветвленной структуры — состоят из остатков *D*-галактозы, *D*-глюкуроновой кислоты, арабинозы и рамнозы, содержатся в вишневом клее, гуммиарабике, обладают клейкостью и способностью образовывать твердые гели.

## 6.2. Обмен углеводов — анаболизм и катаболизм.

### Брожение и аэробное окисление

Как уже отмечалось, источником органического вещества на Земле является **фотосинтез** на основе оксида углерода (IV) (углекислого газа), прежде всего, в зеленом листе растений, водорослях и фотосинтезирующих бактериях. **Парадокс**, однако, всей нашей познавательной концепции заключается в том, что фотосинтез осуществляется в системе таких исключительно сложных образований, как ферменты, имеющих белковую природу и, следовательно, созданных до начала фотосинтеза.

В последующих разделах мы узнаем, что ответственными за синтез белка являются нуклеиновые кислоты, однако последние также создаются белковыми ферментами. Так что, перед познающим субъектом неизменно возникает вопрос: «Что первично — курица от яйца или яйцо от курицы?» В более широкой постановке вопроса — в чем сокрыты истоки живой материи?

Рассмотрим вкратце, что нам известно о синтезе и диссимиляции углеводов.

**Метаболизм углеводов** может проходить, как уже отмечалось в п. 5.3, двумя путями: **анаэробным** (без участия кислорода) и **аэробным** (с участием кислорода). Анаэробные организмы используют в качестве конечного акцептора электронов продукты диссимиляции глюкозы (например, уксусный альдегид, пировиноградную кислоту), а аэробные — молекулярный кислород.

Анаэробы подразделяются на два класса: **облигатные** и **факультативные**. К первым относятся некоторые виды бактерий и беспозвоночных животных, обитающих в бескислородной среде. Факультативные анаэробы (бактерии, грибы, растения и высшие животные) могут функционировать как в аэробных, так и анаэробных условиях.

Общей стадией аэробного и анаэробного механизмов диссимиляции углеводов является, как уже отмечалось, **гликолиз** — распад молекулы глюкозы на две трехуглеродные молекулы — пировиноградной или молочной кислоты. Если процесс начинается с гликогена, то он называется **гликогенолизом**.

### 6.2.1. Гликолиз

Гликолиз не требует участия кислорода, но может протекать как в отсутствии, так в присутствии кислорода, что наблюдается, например, в клетках высших растений.

Условно гликолиз можно разделить на две стадии.

1. Изомеризация глюкозы во фруктозу и расщепление последней на две таутомерные триозы: глицеральдегид и диоксиацетон.

2. Окисление глицеральдегида в пировиноградную кислоту (пируват) с последующим восстановлением последней в ряде случаев в молочную кислоту (лактат).

**Первая стадия** начинается с ферментативного фосфорилирования гексоз и расщепления фруктозо-1,6-дифосфата на две триозы (схема на рис. 6.2).

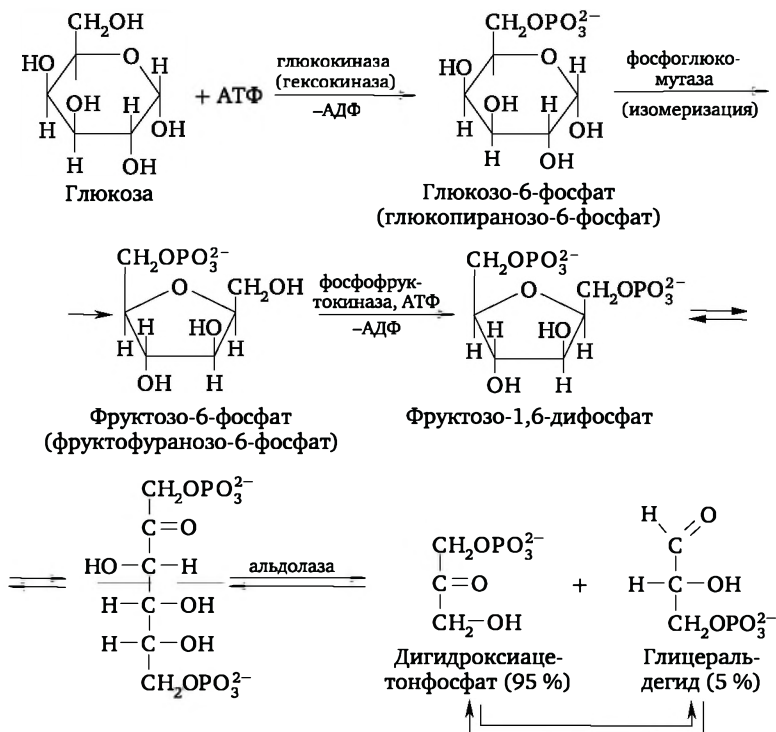


Рис. 6.2. Ферментативное расщепление глюкозы на триозы

Дигидроксиацетон термодинамически более стабилен, чем глицеральдегид, что объясняет их соотношение в равновесной смеси. Однако именно глицеральдегид продолжает цепь метаболических превращений во **второй стадии** гликолиза, связанной с окислени-

ем его до пировиноградной, а в ряде случаев — до молочной кислоты (рис. 6.3).

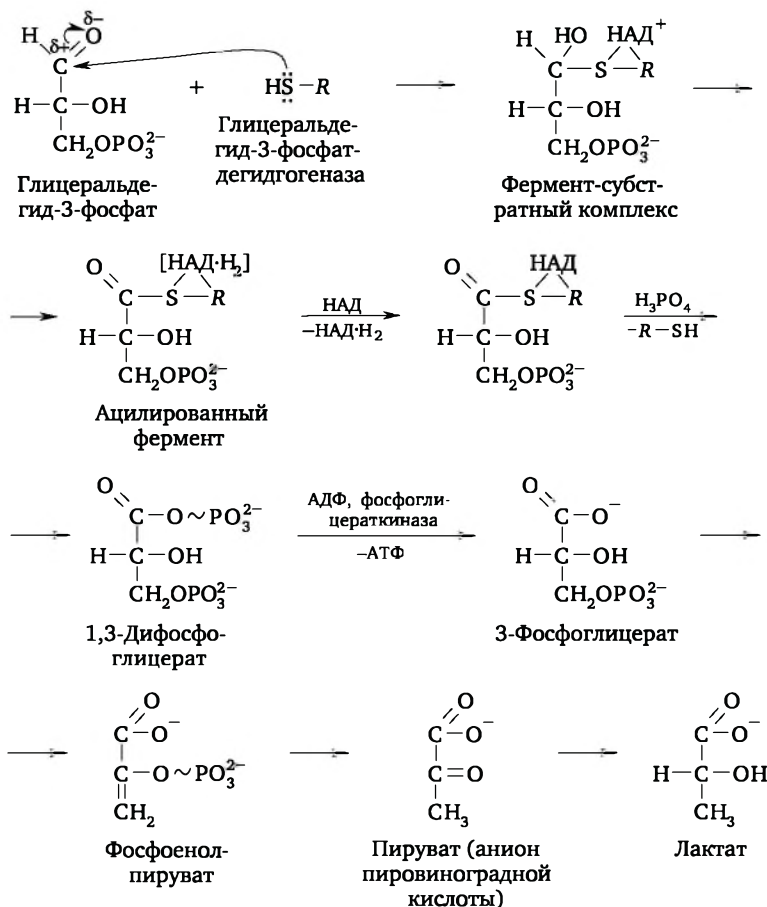
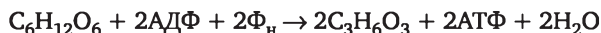


Рис. 6.3. Ферментативное анаэробное окисление глицеральдегида в молочную кислоту

В упрощенной форме процесс гликолиза представлен на рис. 6.4. Как следует из этой схемы, в процессе гликолиза образуется четыре молекулы АТФ, однако две молекулы АТФ используются на начальной стадии для фосфорилирования глюкозы и фруктозо-6-фосфата. Таким образом, гликолиз поставляет клетке две молекулы АТФ и две молекулы  $\text{NAD}\cdot\text{H}_2$



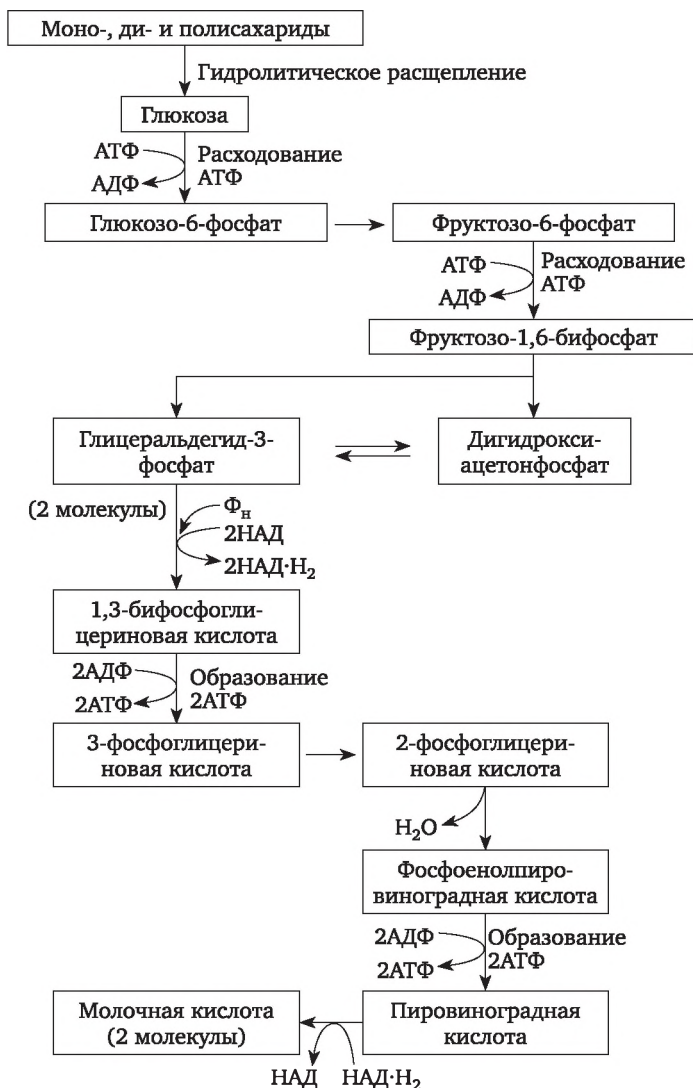


Рис. 6.4. Общая схема гликолиза

Распад глюкозы до лактата сопровождается высвобождением энергии — стандартная свободная энергия системы уменьшается ( $\Delta G = -196,9$  кДж/моль), что обеспечивает синтез двух молекул АТФ. В условиях гликогенолиза образуется три молекулы АТФ.

При гликолизе используется 35—40 % высвобождаемой энергии. Остальная энергия рассеивается в виде тепла.

### 6.2.2. Пировиноградная кислота

Пировиноградная кислота занимает центральное место во всем разнообразии анаэробных и аэробных процессов катаболизма углеводов (рис. 6.5).

### 6.2.3. Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса)

Продолжая тему биологического окисления глюкозы, следует констатировать, что образовавшаяся при гликолизе молочная кислота (лактат) вновь превращается путем дегидрирования в пировиноградную кислоту (пируват) и транспортируется из цитоплазмы в митохондрии, где реализуется **вторая стадия** аэробного окисления — пировиноградная кислота подвергается окислительному декарбоксилированию с образованием ацилированного по группе SH кофермента А — ацетил-S-KoA (схема на рис. 6.6).

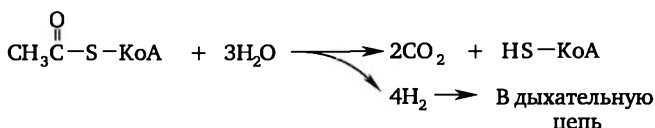
Превращение молекулы глюкозы в две молекулы пировиноградной кислоты и далее — в две молекулы ацетил-S-KoA связано с образованием двух молекул НАДФ·H<sub>2</sub> (шесть молекул АТФ).

Высокой энергоемкостью характеризуется **третья стадия** аэробного окисления глюкозы — диссимиляция двух молей ацетил-S-KoA в цикле трикарбоновых кислот (в ЦТК, или цикле Кребса, или цикле лимонной кислоты) (рис. 6.7).

Образно выражаясь, ЦТК можно определить как «котел», в котором сгорают «поленья» ацетил-S-KoA, содержащего высокоэнергетическую тиозфирную связь. Источником последнего наряду с **сахарами**, как будет показано далее, являются **жирные кислоты** — продукты катаболизма жиров.

ЦТК занимает центральное место в сопряжении и регуляции процессов катаболизма и анаболизма органических соединений в живой клетке. Кроме энергетического предназначения, цикл выступает в качестве источника ряда метаболитов для биосинтеза.

В общем виде материальный баланс превращений молекулы Ас-S-KoA в цикле Кребса заключается в следующем:



Очевидно, что для образования двух молекул CO<sub>2</sub> на основе ацетильного фрагмента ацетил-S-KoA необходимо три молекулы воды. Освобождающиеся в ЦТК девять атомов водорода распределяются таким образом: один атом уходит с регенерируемым KoA-SH, а четыре молекулы H<sub>2</sub> транспортируются в **систему окислительных ферментов — цитохромов** (в дыхательную цепь).

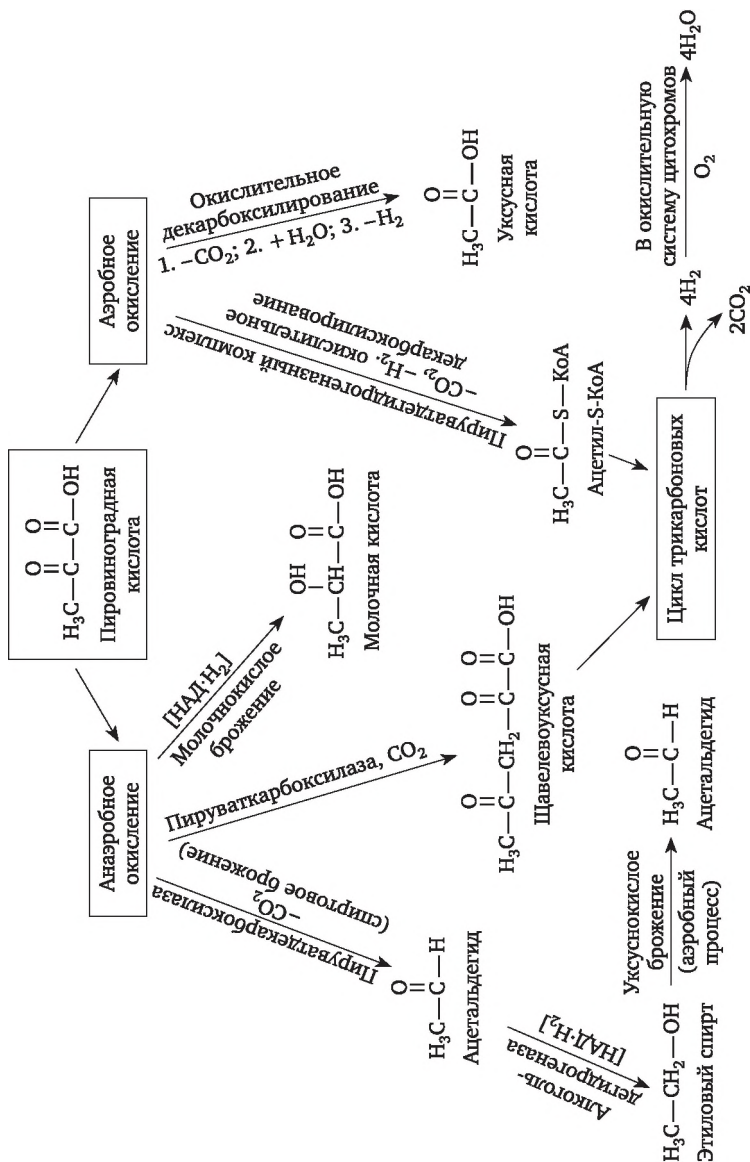


Рис. 6.5. Основные направления анаэробного и аэробного метаболизма пировиноградной кислоты



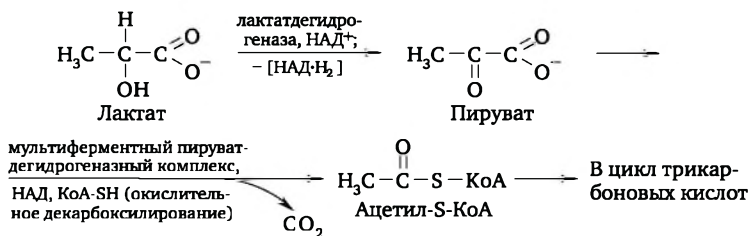


Рис. 6.6. Окислительное декарбоксилирование пирувата в условиях аэробного окисления глюкозы

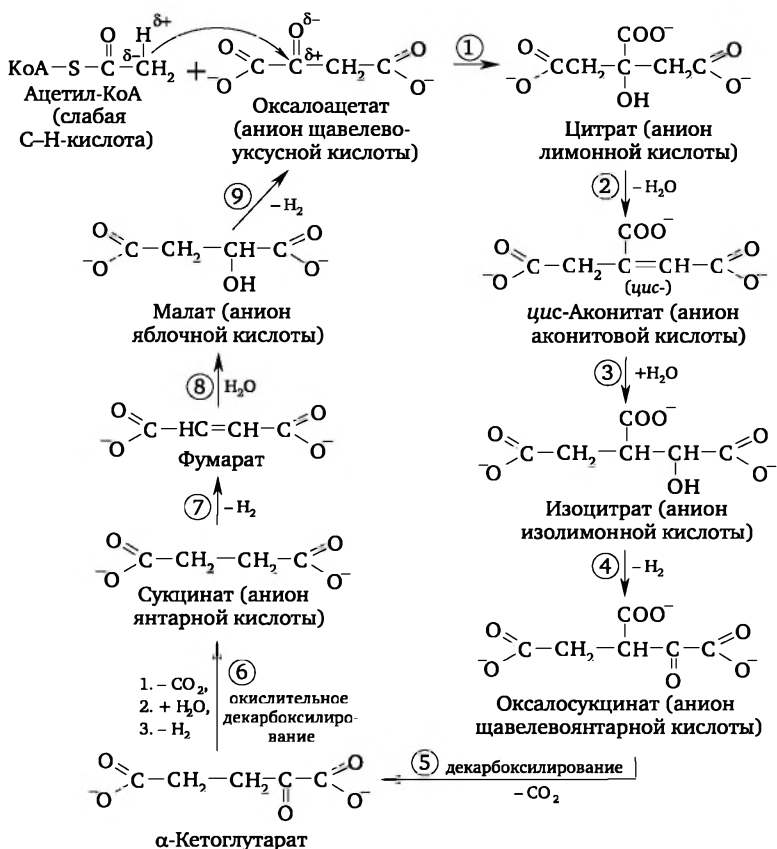


Рис. 6.7. Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК):

Ферменты (постадийно): 1 — цитратсинтетаза; 2 — аконитаза;

3 — гидратаза; 4 — НАД-зависимая изоцитратдегидрогеназа;

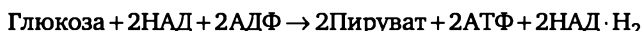
5 — декарбоксилаза; 6 — оксоглутаратдегидрогеназный комплекс;

7 — сукцинатдегидрогеназа, ФАД; 8 — фумараза; 9 — малатдегидрогеназа.

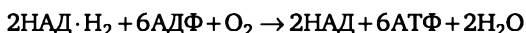
Реакции ЦТК продуцируют две молекулы НАД $\cdot$ Н $_2$ , что выражается в образовании шести молекул АТФ, а окисление отщепляемых в этом цикле четырех молекул водорода освобождает количество энергии, эквивалентное 18 молекулам АТФ.

Таким образом, подводя итог, отметим, что **общий энергетический выход** аэробного окисления глюкозы до СО $_2$  и Н $_2$ О — 38 высокоэнергетических связей АТФ — обеспечивает следующая последовательность превращений.

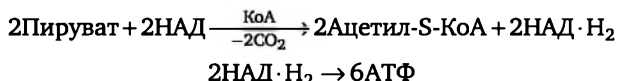
1. Трансформация молекулы глюкозы в пируват:



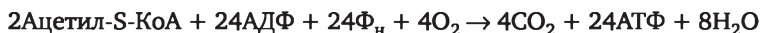
Окисление двух молекул НАД $\cdot$ Н $_2$  кислородом в процессе аэробного дыхания приводит к образованию шести молекул АТФ:



2. Окисление двух молекул пировиноградной кислоты до ацетил-S-KoA приводит к образованию двух молекул НАД $\cdot$ Н $_2$ , окисление которых в дыхательной цепи дает шесть молекул АТФ:



3. Диссимиляция двух молекул ацетил-S-KoA в ЦТК, сопровождающаяся окислительным фосфорилированием и окислением восьми молекул водорода в цитохромной системе, обеспечивает образование 24 молекул АТФ:



#### 6.2.4. Глиоксилатный цикл

Существуют и другие энергопродуцирующие пути дыхания. Так, некоторые бактерии (*Escherichia coli*, *Pseudomonas*), плесневые грибы и растения в качестве источника углерода используют метобанизм уккусной кислоты (ацетата) в так называемом **цикле глиоксиловой кислоты**. Последний полностью сохраняет пусковой механизм (стадии 1—3) и завершающий этап (стадия 9) цикла трикарбоновых кислот (см. рис. 6.7), но отличается от последнего тем, что существенно сокращает путь изоцитрата к яблочной кислоте (малату). При этом исключаются четыре стадии превращений (4—8, см. рис. 6.7) и вводятся две новые стадии, связанные с образованием глиоксиловой кислоты (глиоксилата) и ассимиляцией ею еще одной (в дополнение к стартовой) молекулы ацетил-S-KoA (рис. 6.8).

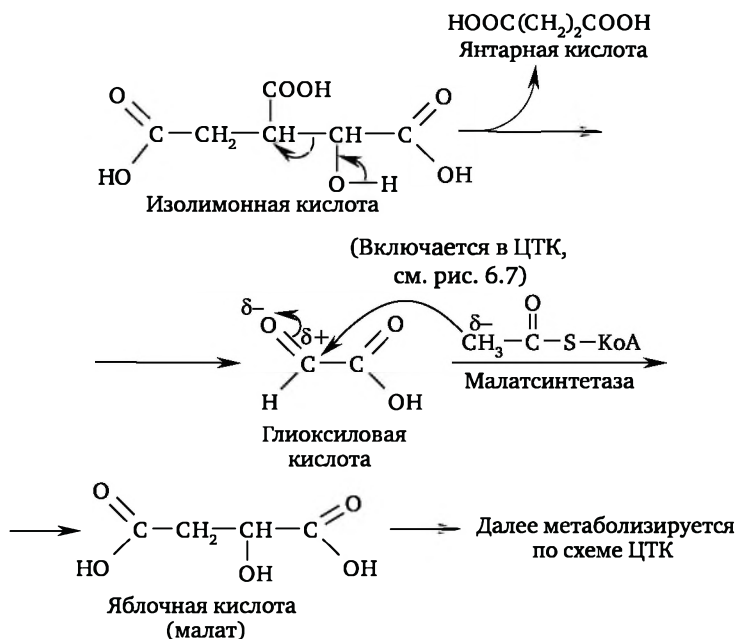


Рис. 6.8. Биосинтез и метаболизм глиоксильной кислоты в глиоксильном цикле

Таким образом, глиоксильный цикл интенсифицирует процесс ассимиляции ацетила, что очень важно в условиях повышенных концентраций последнего, например при трансформации жиров в углеводы. Так, на стадии прорастания масличных культур до начала в их проростках фотосинтеза потребности растения в углеводах обеспечивают реакции глиоксильного цикла. Процесс протекает в субклеточных структурах — **глиоксисомах**, где окислительная диссимиляция жирных кислот образует значительную концентрацию ацильных остатков.

Образовавшаяся в этом цикле янтарная кислота (сукцинат) не может быть использована глиоксисомой и передается в митохондрию. Здесь она окисляется до яблочной и далее — до щавелевоуксусной кислоты. Последняя, по-видимому, уже вне митохондрии декарбоксилируется в фосфоенолпируват, из которого образуются **триозы**, продуцирующие **гексозы** по механизму, обратному диссимиляции глюкозы.

### 6.2.5. Пентозофосфатное (апотомиическое) окисление глюкозы

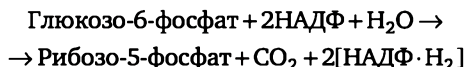
В животных и растительных клетках наряду с гликолизом существует и другой, более короткий, но весьма продуктивный в плане обеспечения энергией путь диссимиляции глюкозы, именуемый

**пентозофосфатным окислением (ПФО)**, главный признак которого заключается в трансформации **глюкозы** в **пентозы**.

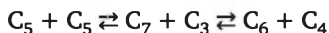
Биологическое предназначение этого пути окисления состоит, во-первых, в генерировании НАДФ·Н<sub>2</sub>, необходимого для биосинтеза жирных кислот, стероидов, нуклеотидов и нуклеиновых кислот, а, во-вторых — в воспроизводстве ряда моносахаридов C<sub>3</sub>—C<sub>7</sub>. Некоторые промежуточные продукты ПФО принимают участие в темновой фазе фотосинтеза гексоз. Кроме того, окисление этого типа может иметь определенное энергетическое значение, так как НАДФ·Н<sub>2</sub> может окисляться в клетке кислородом.

Пентозофосфатное окисление происходит в **цитоплазме** клеток. В частности, в клетках печени и молочной железы по пентозофосфатному пути окисляется около 30 % глюкозы. В растительных клетках интенсивность ПФО возрастает в неблагоприятных условиях: при засухе, калийном голодании, в темное время суток, при старении клетки.

Пентозофосфатное окисление состоит из двух фаз. Первая фаза — **окислительная** (рис. 6.9) — заключается в превращении **глюкозо-6-фосфата** в **рибулозо-5-фосфат**, связанном с декарбоксилированием и образованием двух молекул восстановленного НАДФ ([НАДФН+Н<sup>+</sup>], или НАДФ·Н<sub>2</sub>):



**Вторая фаза** не связана с окислительно-восстановительными процессами и включает в себе ряд ферментативных реакций изомеризации и диспропорционирования моноз (рис. 6.10). Так, под влиянием ферментов **изомераз** рибулозо-5-фосфат может превращаться в *D*-ксилулозо-5-фосфат и *D*-рибузо-5-фосфат. Другие же ферменты — **трансферазы** — обеспечивают превращения с диспропорционированием числа атомов углерода в парах моносахаридов:



Образующиеся пентозы необходимы для биосинтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот, а эритрозо-4-фосфат используется для синтеза шикимовой кислоты — предшественника ароматических аминокислот, витаминов, фитогормонов и других биоактивных веществ.

Важным результатом ПФО является то, что в конечном счете **шесть молекул** рибулозо-5-фосфата, образующихся в результате окисления шести молекул *D*-глюкозо-6-фосфата, за счет ферментативных превращений регенерируют **пять молекул** исходной глюкозы.

В частности, трансальдолазная и транскетолазная реакции могут привести к образованию четырех молекул фруктозо-6-фосфата. Еще

одну молекулу фруктозо-6-фосфата могут дать 3-глицеральдегид-фосфат и диоксиацетонфосфат. А фруктозо-6-фосфат, как известно, под действием изомеразы превращается в глюкозо-6-фосфат.

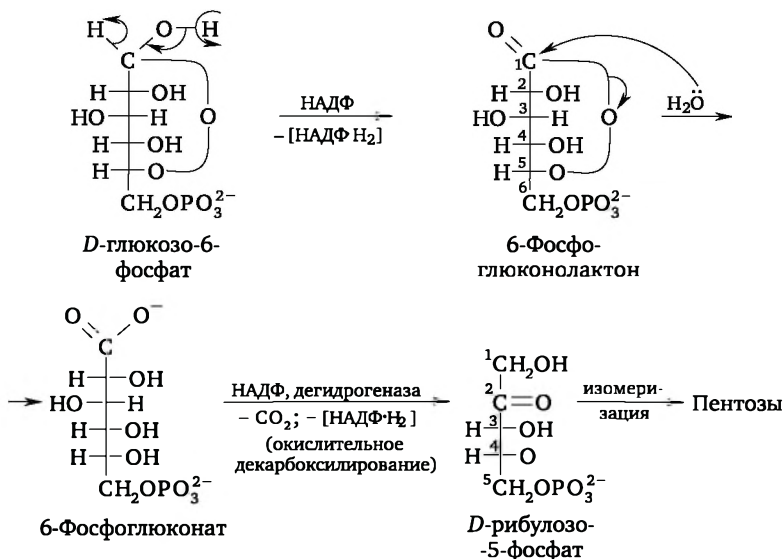


Рис. 6.9. Окислительная фаза пентозофосфатного окисления глюкозы

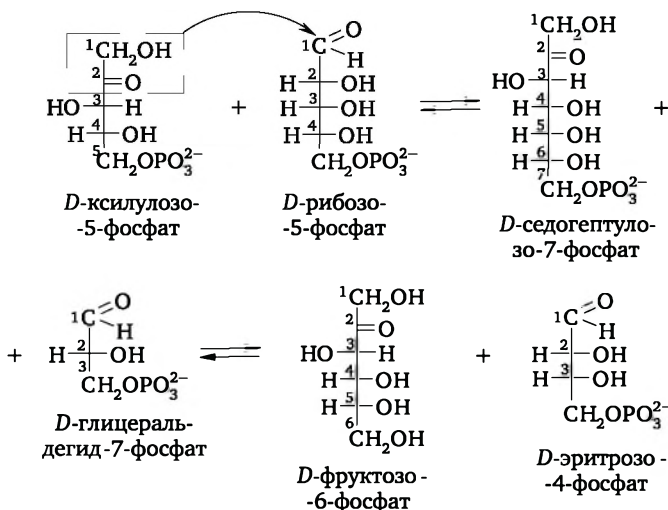


Рис. 6.10. Ферментативное превращение моноз в условиях пентозофосфатного окисления

Суммарно этот процесс описывается следующим уравнением:



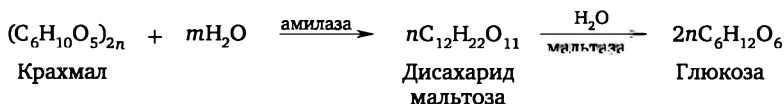
Теоретически 12 молекул НАДФ·Н<sub>2</sub> в дыхательной цепи могли бы освободить энергию, достаточную для образования 36 молекул АТФ. Поскольку одна молекула АТФ используется в начальной стадии фосфорилирования глюкозы, общий энергетический потенциал ПФО оценивается в 35 молекул АТФ, что сравнимо с энергетическим выходом гликолиза и цикла Кребса (38 АТФ).

### 6.2.6. Особенности обмена углеводов в организмах животных и человека

Метаболизм углеводов в растительной и животной клетке во многом сходен, что свидетельствует об общности истоков происхождения всего живого на Земле.

Главным энергетическим субстратом анаболизма углеводов в организмах человека и животных является **глюкоза** как свободная, так и связанная в гликоген. Процесс ее аэробного окисления локализован в клетках эукариот в **митохондриях**, а у прокариот — в **клеточных мембранах** и протекает в соответствии с вышеизложенным механизмом (см. рис. 6.2—6.5).

**Диссимиляция** углеводов у животных и человека характеризуется рядом особенностей. Уже в **ротовой полости** они частично распадаются под влиянием ферментов — **α-амилазы** и **α-глюкозидазы** (мальтазы) слюны:



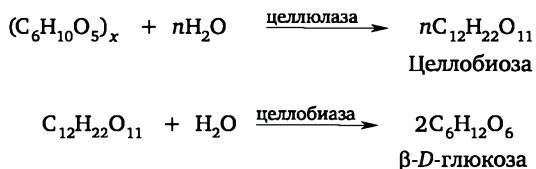
При попадании пищи в желудок действие амилазы ингибируется в связи с высокой кислотностью желудочного сока (рН = 1,5 ÷ 1,8). Оптимальное значение рН для функционирования амилазы составляет 6,8—7,2.

У **жвачных животных** гидролитическое расщепление углеводов, в том числе целлюлозы (клетчатки), происходит в значительной мере под влиянием заселяющих рубец (отдел желудка) бактериальных ферментов: **целлюлазы**, **целлобиазы**, **мальтазы** и **сахаразы**. Образующаяся из целлюлозы целлобиоза, а затем β-D-глюкоза сбраживаются с образованием ацетата, пропионата, лактата, бутирата и других кислот. Эти кислоты, объединяемые общим названием **летучие жирные кислоты (ЛЖК)**, используются у жвачных животных в качестве энергетического материала.

У большинства животных и человека переваривание углеводов происходит главным образом в кишечнике.

Сок поджелудочной железы, выделяемый в двенадцатиперстную кишку, содержит ряд ферментов ( $\alpha$ -амилазу, **лактазу**,  $\alpha$ - и  $\beta$ -**глюкозидазу**, **сахаразу**), которые вызывают распад крахмала и гликогена с образованием декстринов, мальтозы и глюкозы. Распад полисахаридов завершается в тонком кишечнике на мембранах клеток слизистой оболочки под действием того же набора ферментов.

Характерно, что в пищеварительных соках человека и большинства животных (за исключением жвачных) отсутствует фермент **целлюлаза** (1,4-глюкан-4-глюкогидролаза; КФ 3.2.1.4), гидролизующий клетчатку до целлобиозы. У человека клетчатка расщепляется в небольшом количестве в **толстом кишечнике** под влиянием микрофлоры:



Микроорганизмы подвергают глюкозу различным видам **брожения** с образованием  $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ , спиртов и карбоновых кислот (уксусной, молочной, масляной, капроновой и др.). Частично они всасываются кишечником и потребляются микроорганизмами. Основная же масса целлюлозы и образующиеся газы выводятся из организма.

Важно, однако, заметить, что клетчатка стимулирует секрецию пищеварительных соков и перистальтику, способствуя **пищеварению**. Кроме того, неперевариваемая клетчатка действует как **сорбент**, выводящий из организма вредные вещества, тяжелые металлы и радионуклиды.

Образующиеся в результате деструкции углеводов моносахариды всасываются в тонком кишечнике в кровь воротной вены и попадают в печень. Трансмембранный перенос моносахаридов обеспечивается **белками-переносчиками** и связан с участием ионов  $\text{Na}^+$ . С наибольшей скоростью всасываются галактоза и глюкоза, в пять раз медленнее всасывается манноза.

В клетках печени и мышц часть глюкозы депонируется, превращаясь в **гликоген** (животный крахмал), играющий роль запасного углевода. Его содержание в печени составляет 3—5 %, а в мышцах — 0,3—0,9 %. Гликоген существует в виде гранул (10—40 нм), заключающих в себе весь набор ферментов, необходимый для синтеза и распада субстрата.

Моносахариды, растворенные в крови, используются главным образом для энергетических целей (70 %), а также для биосинтеза липидов, коферментов, антител и других структур.

Содержание глюкозы в крови человека и животных составляет 4,4—5,5 ммоль/л (80—120 мг в 100 мл). Контроль за этим параметром осуществляют нервная и гормональная системы. Важную роль при этом играют гормоны поджелудочной железы — **инсулин**, **глюкагон** — и гормон мозгового слоя надпочечников — **адреналин**. Эти гормоны имеют белковую природу. Молекула инсулина включает звенья 51 аминокислоты, образующие две полипептидные цепи. На практике инсулин получают микробиальным синтезом. Причем, его фармакологические свойства во многом определяются качеством питательных сред для бактерий.

Инсулин способствует синтезу гликогена в печени и мышцах, а также окислению углеводов и превращению их в жиры. При недостатке инсулина содержание глюкозы в крови повышается (**гипергликемия**), глюкоза попадает в мочу (**глюкозурия**), а количество гликогена в печени понижается. Эти отклонения от нормы являются признаками тяжелого заболевания — **сахарного диабета**, связанного прежде всего с нарушением инсулинообразующей функции поджелудочной железы.

Заметим, что в организме периодически проявляется естественное **временное повышение** содержания глюкозы в крови и моче (на 1—2 ч), вызванное поступлением в организм глюкозы с пищей. Такая гипергликемия называется **алиментарной** или **пищевой**.

Возможно и чрезмерное понижение концентрации глюкозы в крови (**гипогликемия**), обусловленное перепроизводством инсулина в условиях голодания или тяжелой физической работы.

Антагонистами инсулина являются гормоны **адреналин** и **глюкагон**, ингибирующие синтез гликогена. Возбуждение центральной нервной системы стимулирует секрецию и поступление в кровь адреналина.

В регуляции углеводного обмена участвуют и другие, так называемые **диабетогенные гормоны**, способствующие повышению количества глюкозы в крови, в частности **тироксин** и **кортикостерон**, продуцируемые соответственно щитовидной железой и корой надпочечников.

Причины отклонений от нормы в обмене углеводов кроются в синтезе дефективных ферментов и в нарушении биохимических механизмов регуляции основополагающих процессов в организме.

Отметим некоторые закономерности **синтеза углеводов** в клетках животных организмов и человека.

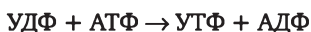
**Биосинтез гликогена** осуществляется в аэробных условиях. На первом этапе под влиянием фермента **гексокиназы** происходит фосфорилирование глюкозы в положение С-6 с помощью



АТФ. Глюкозо-6-фосфат изомеризуется в глюкозо-1-фосфат и вступает в реакцию с уридинтрифосфатом (УТФ). Образующаяся при этом уридиндифосфат-глюкоза (УДФ-глюкоза) представляет собой активированную форму субстрата, способную переносить глюкозидный фрагмент на гидроксильную группу С-4 концевого звена **олигомерной** затравки, содержащей не менее четырех звеньев глюкозы:



УДФ вновь фосфорилируется в УТФ и возвращается в цикл:



В свою очередь, необходимая концентрация глюкозы в клетках может поддерживаться за счет распада гликогена, осуществляемого двумя путями: **фосфоролитическим** и **гидролитическим**. Большая часть субстрата расщепляется в печени и мышцах путем фосфоролиза, высвобождаемый при этом продукт уже фосфорилирован. Гидролитический же распад, осуществляемый в желудочно-кишечном тракте, ведет к образованию свободной глюкозы, что требует дополнительных затрат на фосфорилирование для вовлечения ее в гликолиз.

**Фосфоролиз** гликогена протекает путем последовательного отщепления глюкозо-1-фосфата от открытого конца полимерной цепи гликогена при участии фермента фосфорилазы. Разрыв 1,6-связей в точках ветвления гликогена осуществляет фермент декстриназа ( $\alpha$ -1,6-глюкозидаза).

Некоторая часть гликогена расщепляется в печени и **гидролитически** под влиянием фермента  $\alpha$ -амилазы с образованием декстринов и мальтозы.

Углеводы могут синтезироваться из соединений **неуглеводной** природы: пирувата, лактата, глицерина, некоторых промежуточных продуктов ЦТК, например щавелевоуксусной кислоты (см. подп. 6.2.5). Такого рода синтез глюкозы или гликогена, идущий главным образом в печени, почках и скелетных мышцах, называется соответственно **глюконеогенезом** и **гликогеногонеогенезом**.

Пируват может превращаться в фосфоенолпируват и далее — в фруктозо-1,6-дифосфат, который, освобождаясь от фосфатной группы в первом положении, легко изомеризуется при участии фосфогексоизомеразы в глюкозо-6-фосфат.

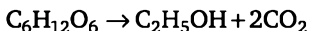
**Глицерин** как предшественник глюкозы первоначально фосфорилируется и далее окисляется с помощью глицеролфосфатдегидрогеназы в дигидроксиацетонфосфат, частично изомеризующийся в глицеральдегид. Образовавшиеся таутомерные триозы продуцируют фруктозу через последовательность реакций, обратных тем реакциям, которые осуществляются в процессе **гликолиза**.

### 6.2.7. Анаэробный распад (брожение) углеводов (сахаров)

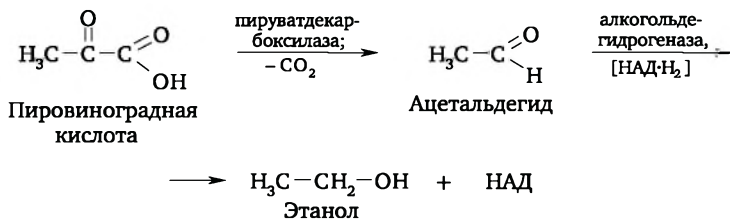
Как следует из общей схемы 6.5, гликолиз может иметь продолжение и в анаэробном процессе — брожении сахаристых веществ. Этот процесс осуществляется благодаря жизнедеятельности ряда микроорганизмов — бактерий и плесневых грибов.

Аналогичные процессы, именуемые **анаэробным (интрамолекулярным) дыханием**, осуществляются в клетках растительных организмов (прежде всего, в плодах и семенах), где они сочетаются с процессами **аэробного дыхания**. Вклад каждого из этих двух взаимодополняющих типов дыхания зависит от природы организма и внешних условий (газового режима, температуры, влажности и др.).

Брожению подвергается ряд моно-, ди- и полисахаридов, но центральное место в этом ряду занимает глюкоза, а из всех видов брожения наиболее важным представляется **спиртовое брожение**:



Образующаяся на стадии гликолиза пировиноградная кислота подвергается декарбоксилированию с последующим восстановлением **ацетальдегида** в спирт:



Спиртовое брожение лежит в основе ряда пищевых производств (виноделия, пивоварения, изготовления спирта).

Наиболее типичными организмами спиртового брожения являются **дрожжи**, в частности принадлежащие к роду *Saccharomyces*. При определенных условиях спиртовое брожение вызывают некоторые дрожжеподобные организмы (*Monilia*, *Oidium*) и **плесневые грибы** (*Mucor*).

Наряду с главными продуктами спиртового брожения ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ,  $\text{CO}_2$ ) в процессе образуются в незначительных количествах янтарная кислота, сивушные масла (смесь амилового, изоамилового, бутилового и других спиртов), уксусный альдегид, глицерин и некоторые другие соединения. Наличие таких примесей в ничтожных количествах может определять специфический запах и вкус вина, пива и других напитков.

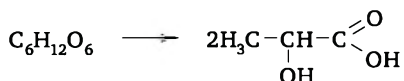
Наиболее легко сбраживаются глюкоза и фруктоза, медленнее — манноза, еще медленнее — галактоза. Из дисахаридов подходящи-

ми субстратами брожения являются **сахароза** и **мальтоза**, хотя они требуют предварительного гидролиза до моносахаридов. Лактоза сбраживается лишь особыми видами дрожжей — **лактозными дрожжами**, обладающими β-галактозидазой и способными поэтому гидролизировать лактозу на глюкозу и галактозу.

Дрожжи сбраживают сахара при концентрации последних до 60 % и выдерживают концентрацию спирта 10—14 %. Причем дрожжи более чувствительны к спирту при высоких концентрациях сахара и при повышенных температурах.

В присутствии кислорода брожение прекращается (**эффект Пастера**), и дрожжи получают энергию, необходимую для их жизнедеятельности, за счет кислородного (аэробного) дыхания. При этом расходование сахара значительно уменьшается.

При **молочнокислом** брожении молекула гексозы распадается на две молекулы молочной кислоты:



Такое брожение занимает важное место в производстве молочнокислых продуктов (простокваши, кефира, кумыса, ацедофилина), при изготовлении кваса, хлебных заквасок, при квашении капусты, огурцов и при силосовании кормов.

Микроорганизмы, вызывающие молочнокислое брожение, разделяются на **две группы** (подробнее см. подп. 11.4.2). К первой группе относятся микроорганизмы, подобные *Streptococcus lactis*. Они являются чистыми анаэробными и сбраживают гексозы в точном соответствии с вышеприведенным уравнением. Эти микроорганизмы получили название **гомоферментативных** молочнокислых бактерий.

Ко второй группе относятся **гетероферментативные** молочнокислые бактерии, способные продуцировать наряду с молочной кислотой другие продукты, в частности **уксусную** кислоту и **этиловый** спирт. Типичным представителем бактерий второго типа является микроб *Bacterium lactis aerogenes*, образующий кроме выше упомянутых продуктов углекислый газ, водород и метан. Выход уксусной кислоты при сбраживании сахаров подобными микробами может превышать выход молочной кислоты.

Молочная и уксусная кислоты образуются при сбраживании ржаного теста.

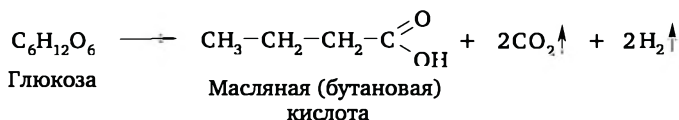
Совместное существование (**симбиоз**) дрожжей и молочнокислых бактерий, оказывающих друг на друга благотворное влияние, наблюдается во многих пищевых продуктах и полуфабрикатах.

Молочная кислота широко применяется в пищевой, текстильной и кожевенной промышленности. В этой связи представляют инте-

рес высокопроизводительные (по выходу молочной кислоты) **термофильные** молочнокислые бактерии, подобные широко используемому *Termobacterium cereale*.

Интересно отметить, что одни молочнокислые бактерии продуцируют **D-форму** молочной кислоты, другие — **L-форму**, а третьи — оптически недействительную, т. е. рацемическую смесь. Причем стереоселективность продуцента в ряде случаев зависит от природы питательной среды. Например, бактерия *Lactobacillus casei* при развитии на моносахаридах и лактозе образует **D-(+)-молочную** (правовращающую) кислоту, а при развитии на сахарозе — оптически недействительную **DL-форму**.

Третьим видом брожений является **маслянокислое брожение**:



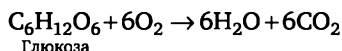
Большинство микробов, вызывающих маслянокислое брожение, являются **анаэробами**. Некоторые из них принадлежат к группе **облигатных** анаэробов, т. е. таких организмов, которые могут существовать лишь в отсутствие кислорода.

Маслянокислое брожение характеризуется большим выходом побочных продуктов (этилового спирта, молочной и уксусной кислот).

В природных условиях маслянокислое брожение происходит в больших масштабах на дне болот, в илах, заболоченных почвах и в других местах, обогащенных органическим веществом, но недоступных для кислорода.

Гомоферментативные виды брожения: молочнокислое, спиртовое и маслянокислое — являются основными типами. Существуют и другие виды брожения, в частности **пропионовокислое**. Брожение клетчатки и пектиновых веществ являются разновидностями **маслянокислого** брожения.

Процессы брожения находятся в тесной связи с кислородным (аэробным) дыханием, которое отражает уравнение



Важно отметить некоторые характерные **особенности** реализации **аэробных процессов** в растительных клетках.

Как следует из вышепредставленного уравнения, отношение объемов выделяемого углекислого газа и поглощаемого кислорода ( $V_{\text{CO}_2} / V_{\text{O}_2}$ ), называемого **дыхательным коэффициентом**, равняется единице. Однако часто в реальных процессах дыхательный коэффициент отклоняется от единицы. Например, при созревании пло-

дов, когда количество потребляемого кислорода возрастает за счет образования органических кислот, дыхательный коэффициент принимает значение меньше единицы.

Такая же закономерность наблюдается у прорастающих масличных семян в связи с **окислением** бедных кислородом **жирных кислот** и превращением жира в сахара.

В то же время дыхательный коэффициент превышает единицу при созревании масличных семян, когда происходит процесс образования жира из углеводов и часть потребляемого кислорода заимствуется из углеводов.

Дыхание растительных организмов сопровождается рядом типичных явлений.

1. Уменьшается **биомасса**, что связано с расходом гексоз. В частности, такой феномен наблюдается у прорастающего зерна и хранящихся овощей.

2. Изменяется **состав** окружающей среды. Например, в элеваторах с хранящимся зерном содержание углекислоты в межзерновом пространстве может достигать 13 % (вместо обычных 0,03 %).

3. Усиленно выделяются **тепло** и **влажность**. Превышение так называемой критической влажности приводит к резкому усилению интенсивности дыхания и, следовательно, к саморазогреванию и порче продукта, например семян и овощей.

Указанные особенности следует учитывать при эксплуатации складских помещений и элеваторов. Высокую интенсивность дыхания обнаруживают микроорганизмы, особенно плесневые грибы. Именно поэтому **плесневение** какой-либо хранящейся растительной массы (зерна, табака и др.) резко повышает интенсивность дыхания и усиливает выделение углекислого газа.

Повышение концентрации углекислого газа и понижение концентрации кислорода в воздухе вызывают уменьшение интенсивности кислородного (аэробного) дыхания в растительной клетке и усиление процесса **анаэробного (интрамолекулярного)** дыхания, являющегося, по существу, процессом брожения.

Так, отмечается постепенно повышающийся дыхательный коэффициент в созревающих плодах, что указывает на усиление процесса **брожения** по сравнению с **аэробным дыханием**. Однако некоторые ткани растений даже при достаточном доступе кислорода обнаруживают высокие дыхательные коэффициенты. Это свидетельствует о том, что в этих тканях наряду с аэробным дыханием протекают также определенные анаэробные процессы.

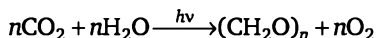
О реализации в некоторых растительных объектах, например в созревающих плодах, процессов брожения свидетельствуют не только высокие дыхательные коэффициенты, но и соответствующие продукты метаболизма: этиловый спирт, ацетальдегид, уксусная и молочная кислоты. В созревающих яблоках, грушах, бананах

и других фруктах образуется некоторое количество этилена, ускоряющего созревание плодов.

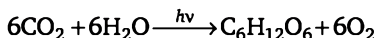
#### 6.2.8. Фотосинтез

Фотосинтез — это процесс образования в организмах **органических веществ**, на основе **оксида углерода (IV)** и водорода, продуцируемого фотолитическим разложением **воды**. Фотосинтез осуществляется как в эукариотических организмах (высших зеленых растениях, водорослях), так и в прокариотах (фотосинтезирующих бактериях и сине-зеленых водорослях).

Суммарно процесс фотосинтеза можно выразить уравнением



Чаще всего  $n = 6$ , что соответствует образованию гексоз:



Некоторые фотосинтезирующие бактерии используют в качестве источника водорода вместо  $\text{H}_2\text{O}$  неорганические соединения (**сероводород**, газообразный водород и др.) или органические вещества (**молочную кислоту**, изопропиловый спирт).

С другой стороны, отдельные фотосинтезирующие организмы способны использовать вместо оксида углерода (IV) другие акцепторы молекулы водорода. Так, азотфиксирующие организмы используют для этих целей **молекулярный азот** ( $\text{N}_2$ ), который в процессе синтеза восстанавливается до аммиака.

Фотосинтез — это основной источник органических соединений и молекулярного кислорода на Земле. Энергия Солнца аккумулируется в **химических связях** углеводов и в макроэргических связях АТФ, образующегося в процессе **фотохимического фосфорилирования**.

Фотосинтетический аппарат локализован в особых органеллах клетки — **хлоропластах** (хлорофилловых зернах). Хлоропласты высших растений представляют собой дискообразные тела (1—10 мк), наполненные пластинками, сгруппированными в **граны**. Гомогенная основа, лежащая между пластинками, называется **матриксом** (стромой).

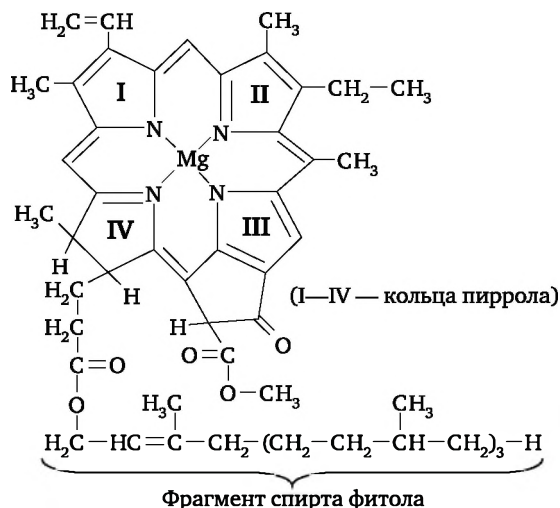
Хлоропласты содержат от 58 до 75 % воды. Сухое вещество хлоропласта состоит из белков (37—47 %), липидов (29—36 %;), углеводов (до 30 %) и пигментов (7 %). В хлоропластах имеются также ДНК и РНК.

В матриксе, в который по сути погружены граны хлоропластов, содержится целый ряд водорастворимых ферментов, обеспечивающих превращения продуктов фотосинтеза.

Фоточувствительным элементом хлоропласта являются **пигменты**, заключающие в себе **хлорофиллы** и **каротиноиды** (каротины и ксантофиллы). Их способность поглощать кванты света определенной длины волны в видимой области электромагнитного спектра обусловлена наличием в соответствующих молекулах мощных сопряженных систем (ароматических колец порфирина, полиеновых фрагментов и др.).

В зеленых растениях хлорофилла обычно значительно больше, чем каротиноидов — их соотношение иногда достигает значения 5:1. Пластиды, не имеющие хлорофилла и содержащие лишь каротиноиды (в желтых плодах, корнях, цветах), называют **хромопластами**. Пластиды бесцветных тканей растений, например клубней картофеля, в которых пигменты отсутствуют, называют **лейкопластами**. Между тремя видами пластид имеются переходные структуры.

Хлорофиллы являются комплексными соединениями — **порфиринами магния(II)**, обнаруживающими сходство с порфиринами железа(II) (гемами). Известно несколько модификация порфиринов магния (*a*, *b*, *c*<sub>1</sub>, *c*<sub>2</sub>, *d*, *e*), которые отличаются природой заместителей в кольце порфирина. Во всех растениях обнаруживается **хлорофилл *a***:



Хлорофилл *a* существует в растениях в виде различных форм, что связано с агрегацией его молекул и комплексообразованием с белками. Эти формы отличаются по положению максимума основной полосы поглощения в интервале 660—705 нм.

Остаток длинноцепного непредельного спирта — **фитола** — придает молекуле хлорофилла липофильные свойства, т. е. способность растворяться в жирах.



В качестве вспомогательного хлорофилла в высших растениях и зеленых водорослях функционирует хлорофилл *b*, отличающийся тем, что вместо метильного радикала во втором пиррольном кольце он содержит формильную группу  $-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-\text{H}$ .

Поглощение хлорофиллом световой энергии обеспечивает комплекс антенны — две дополняющие друг друга фотосистемы (I и II), работающие на различных максимумах поглощения (700 и 680 нм). Поглощенная световая энергия передается реакционному центру, содержащему хлорофилл *a*. Вместе они образуют так называемую фотосинтетическую единицу.

Структура электронотранспортных систем фотосинтеза в хлоропластах подобна структуре дыхательной цепи митохондрий. В этих системах содержатся цитохромы *b*- и *c*-типа; хиноны (пластохиноны); медьсодержащий белок — пластоцианин; белок, содержащий негемовое железо, — ферредоксин (Fe-S-белок); НАД-редуктаза и др.

**Фотосинтез** представляет собой цепь окислительно-восстановительных реакций и состоит из двух стадий, или фаз — световой и темновой.

**Световую** фазу, связанную с использованием солнечной энергии, можно разделить на два этапа. Первый из них заключается в фотолизе (фотохимическом разложении) воды при участии хлорофилла с выделением молекулярного кислорода. Второй этап световой фазы, в котором принимают участие хлорофилл, цитохромы и другие переносчики электронов, сводится к переносу электронов от воды к НАДФ и образованию АТФ.

Далее процесс фотосинтеза находит продолжение в темновой фазе. Здесь образовавшиеся две молекулы НАДФ·H<sub>2</sub> и три молекулы АТФ используются для восстановления одной молекулы оксида углерода(IV) до углевода. Восстановление одной молекулы CO<sub>2</sub> до углевода и выделение одной молекулы O<sub>2</sub> требуют не менее восьми квантов световой энергии, т. е. квантовый выход фотосинтеза составляет 1/8 (12 %).

Какие же продукты образуются в результате темнового этапа фотосинтеза — ассимиляции оксида углерода(IV)?

Характер биохимических превращений соединений углерода при фотосинтезе отражает цикл Кальвина (рис. 6.11). С использованием меченого оксида углерода (<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>) было установлено, что первым продуктом фотосинтеза является фосfogлицериновая кислота.

CO<sub>2</sub> сочетается с фосфорилированной пентозой — рибулозо-1,5-дифосфатом и образующиеся при этом метаболиты C<sub>3</sub> (фосfogлицериновый альдегид и фосфодиоксиацетон) приводят к образованию 1,6-дифосфатфруктозы. Последняя, в свою очередь, является источником биосинтеза сахарозы и полисахаридов (см. рис. 6.11).



Суммарное уравнение цикла Кальвина:

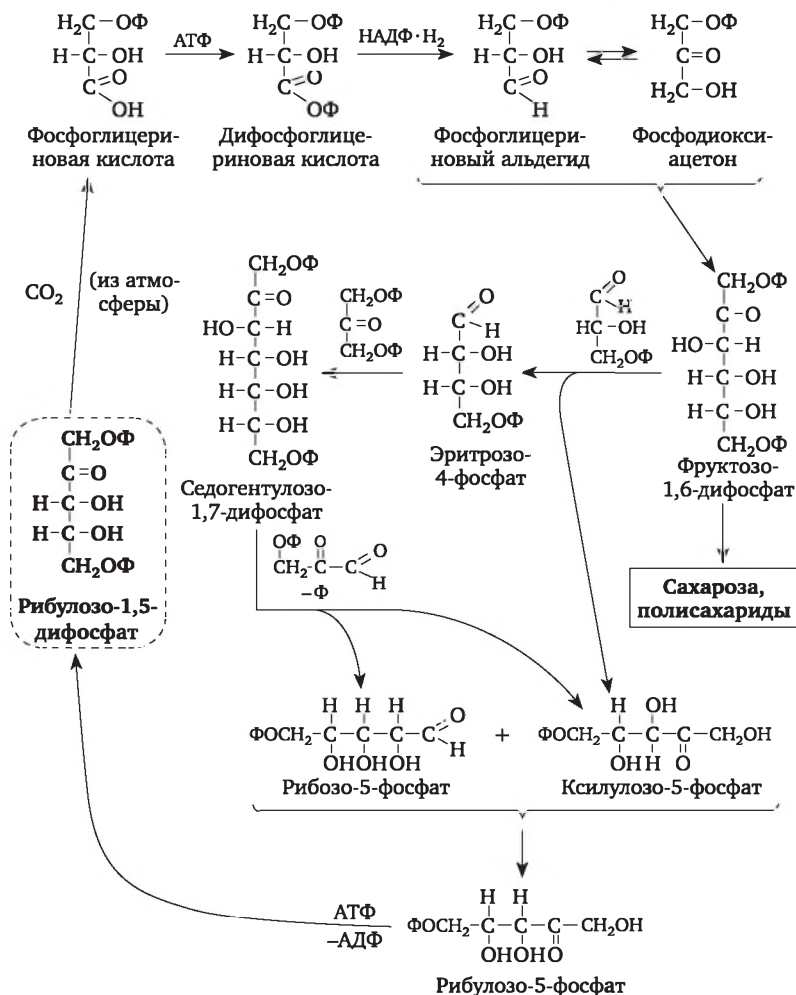
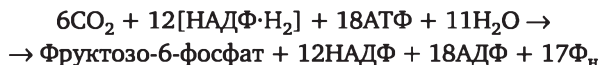
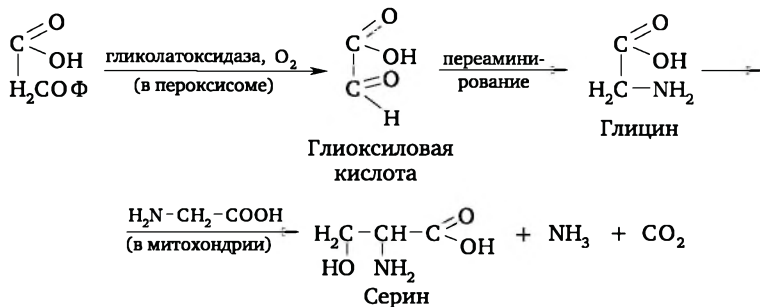


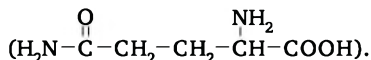
Рис. 6.11. Биохимические превращения оксида углерода(IV) и рибулозо-1,5-дифосфата в условиях фотосинтеза (цикл Кальвина)

Характерно, что при низких концентрациях CO<sub>2</sub>, приближающихся к атмосферным (0,03 %), в хлоропласте под действием рибулосодифосфаткарбоксилазы образуется **фосфогликолевая кислота**.

Последняя выходит из хлоропласта и превращается в гликолевую кислоту, которая в особой субклеточной структуре — **пероксисоме** — окисляется с участием кислорода в глиоксильную кислоту и претерпевает ряд превращений:

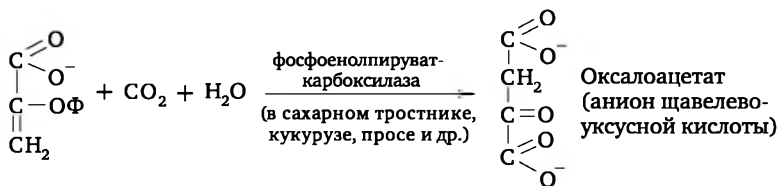


Освобождающийся аммиак связывается в глютамин

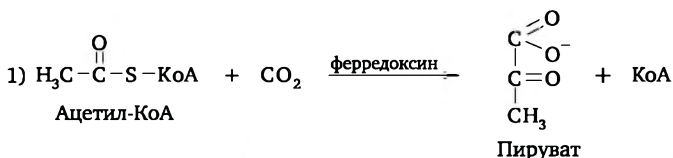


Как видно, пероксисомы и митохондрии принимают участие в процессе так называемого **фотодыхания** — стимулированного светом поглощения кислорода и выделения  $\text{CO}_2$ . В результате фотодыхания может значительно (до 30 %) снижаться продуктивность растений.

Усвоение  $\text{CO}_2$  в процессе фотосинтеза происходит путем карбоксилирования не только представленного выше **рибулозидифосфата**, но и других органических соединений, например **фосфоенолпирувата**:

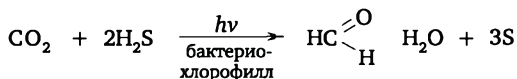


У некоторых фотосинтезирующих бактерий при участии восстановленного ферредоксина оксид углерода(IV) может ассимилироваться за счет реакций с ацетил- и сукцинил-KoA:

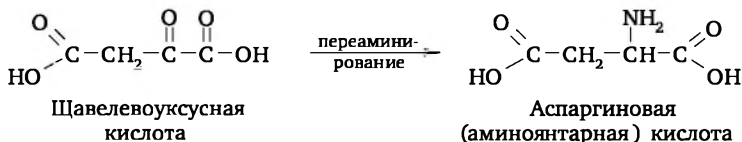




У пурпурных бактерий в условиях фотосинтеза оксид углерода(IV) может восстанавливаться сероводородом до формальдегида:



У бактерий этого типа (*Chromatium*) при коротких экспозициях света (~30 с) около 45 % углерода CO<sub>2</sub> включается в аспаргиновую кислоту через показанный выше биосинтез **оксалоацетата**, который далее подвергается переаминированию:

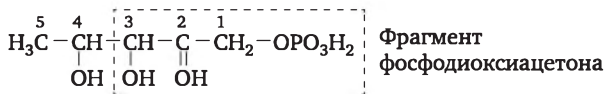


### 6.2.9. Взаимопревращения углеводов в растительных организмах

Первичным фиксируемым продуктом фотосинтеза является, как показано в подп. 6.2.7, **фосфоглицериновая кислота**.

При дальнейших ее превращениях в результате «темновых» ферментативных реакций образуются **триозы** и далее — **гексозы**: глюкоза, фруктоза, манноза и галактоза (см. рис. 6.8).

Под влиянием **альдолазы** фосфодиоксиацетон может конденсироваться и с **уксусным альдегидом** с образованием 1-фосфо-5-дезоксикетопентозы:



Альдолаза чрезвычайно распространена в растениях и микроорганизмах, особенно высоким ее содержанием характеризуются активно растущие части растений.

В листьях на свету наряду с моносахаридами легко образуются **сахароза** и **крахмал**, что следует расценивать как вторичный процесс ферментативного превращения ранее образовавшихся моносахаридов.

Однако сахароза и крахмал могут образовываться в листьях и в темноте под влиянием **фосфорилазы** и других ферментов.

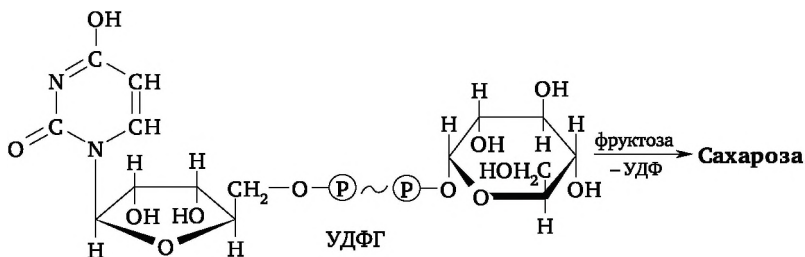
Заметим, что из пентоз — арабинозы и ксилозы — сахароза не образуется.

Взаимопревращения моносахаридов происходят под влиянием ферментов, катализирующих реакции фосфорилирования и образования фосфорных эфиров сахаров. Разнообразные **гексозофосфорные** эфиры найдены в целом ряде растений.

В качестве примера отметим, что глюкозофосфатизомераза катализирует обратимые превращения глюкозо-6-фосфата во фруктозо-6-фосфат и маннозо-6-фосфат, а фосфофруктокиназа вызывает превращение фруктозо-6-фосфата во фруктозо-1,6-дифосфат. Найдены изомеразы, катализирующие взаимодействие **уроновых** кислот.

Образование свободных моносахаридов из их фосфорных эфиров происходит под действием фосфатаз, широко распространенных в растениях и микроорганизмах.

Синтез **сахарозы** в растениях происходит путем реакции **трансгликозилирования**. Фермент сахарозосинтетаза (КФ 2.4.1.13) катализирует взаимодействие уридиндифосфатглюкозы (УДФГ) с фруктозой:



Синтез сахарозы осуществляется также под влиянием других фосфорилированных нуклеотидов.

УДФГ играет первостепенную роль и в синтезе **гликозидов**. Последние образуются также под действием ферментов гликозидаз.

Трисахарид **рафиноза** образуется в растениях путем ферментативного трансгликозилирования, при котором фрагмент галактозы переносится с уридиндифосфатгалактозы на сахарозу.

Синтез такого важного запасного углевода, как **крахмал**, осуществляется в клубнях картофеля и в семенах зерновых культур под действием фермента синтетазы крахмала (2.4.1.21) при участии УДФ-глюкозы или АДФ-глюкозы. Синтезированная амилоза дает затем амилопектин под действием энзима Q (2.4.1.18), который также является трансгликозидазой.

Крахмал, накапливающийся в листьях, легко превращается в сахарозу. Именно в такой водорастворимой форме углеводы транспортируются из листьев в семена, клубни и луковицы, где сахароза снова превращается в крахмал или инулин.

Интересно отметить, что бактерии *Leuconostoc mesenteroides* способны превращать сахарозу в слизистый полисахарид **декстран** в диффузорах сахарных заводов, вызывая значительные технологические осложнения и потери сахара:

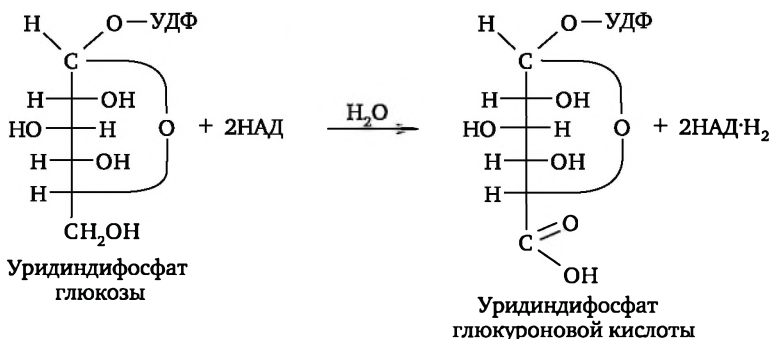


Аналогично некоторые бактерии, например бактерии сенной палочки (*Bacillus subtilis*), вызывают «тягучую болезнь» хлеба, связанную с ферментативным транфруктозилрованием. При этом из сахарозы образуются глюкоза и леван, дающий при гидролизе фруктозу:



**Пентозы** образуются в растениях при декарбоксилировании УДФ-уриновых кислот, широко распространенных в виде различных полиурионидов, а также путем декарбоксилирования кислот, образующихся при окислении гексоз. В частности, образующиеся по пентозофосфатной схеме (см. подп. 6.2.5) фосфорилированные пентозы являются источником целого ряда **моноз**  $C_3-C_7$  (см. рис. 6.10).

**D-глюкуроновая кислота** и ее лактон служат исходными веществами для синтеза полисахаридов **пентозанов**. А сама D-глюкуроновая кислота получается путем окисления уридиндифосфата глюкозы под влиянием фермента УДФ-глюкозодегидрогеназы (КФ 1.1.1.22).



Подобным образом образуется на основе галактозы D-галактуроновая кислота, образующая молекулы **пектинов**. При этом часть карбоксильных групп оказываются метилированными, т. е. превращенными в сложноэфирные группы ( $-\text{C} \begin{smallmatrix} \text{O} \\ // \\ \text{OCH}_3 \end{smallmatrix}$ ). Источ-

ником метильных групп, которые под действием особой транс-

феразы переносятся на полигалактуроновую кислоту, является **S-аденозилметионин**.

У некоторых растений в процессе превращения углеводов роль моносахаридов могут играть продукты восстановления моноз — полиолы: **сорбит**, **дульцит** или **манит** (см. п. 6.1), роль сахарозы — дисахарид **трегалоза**, а роль крахмала — **гликоген**.

Процесс **прорастания семян**, клубней и луковиц связан с резким возрастанием активности ферментов ( $\alpha$ - и  $\beta$ -амилаз, инулаз) и сопровождается гидролизом высокомолекулярных полисахаридов (крахмала, инулина, гемицеллюлозы) с образованием растворимых углеводов: декстринов, мальтозы, продуктов частичного гидролиза инулина — инулидов и фруктозы.

Накопление под действием амилазы значительных количеств декстринов определяет низкие **хлебопекарские** качества муки, полученной из проросшего зерна.

Характерно, что накопление крахмала и гемицеллюлоз в созревающем зерне идет не только при фотосинтезе, но и за счет растворимых углеводов, образующихся из клетчатки и гемицеллюлоз клеточных стенок листа и соломы.

В свою очередь, биосинтез «**конструкционных**» полисахаридов (клетчатки, хитина, гемицеллюлоз, пектиновых веществ), как уже отмечалось, осуществляется путем реакций перегликозирования при участии определенных нуклеозидфосфатов.

Известно, что в организмах высших растений, микробов, животных и человека значительные количества **углеводов** (сахаров) способны **трансформироваться в жиры**, что связано со способностью интермедиата гликолиза — пировиноградной кислоты — продуцировать ацетил-КоА. А последний, как будет показано далее (см. главу 8), является исходным субстратом для синтеза **жирных кислот** и **глицерина**.

Как уже отмечалось в подп. 6.2.4 (глиоксилатный цикл), в природе реализуется и обратный процесс — превращение **жиров в сахара**. Реализуется он, в частности, при прорастании богатых маслом семян (масличных культур), который сопровождается окислительной деструкцией жирных кислот и образованием значительных количеств ацетильных остатков.

### 6.2.10. Хемосинтез

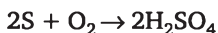
Существуют микроорганизмы, не содержащие хлорофилла, которые усваивают  $\text{CO}_2$  и синтезируют органические вещества, используя энергию, образующуюся при окислении различных неорганических соединений:  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{S}_8$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{HNO}_2$ , производных Fe и Mn.

Такой процесс получил название **хемосинтеза**.

Бесцветные серобактерии некоторых водоемов получают энергию для хемосинтеза по реакции



При недостатке сероводорода серобактерии осуществляют дальнейшее окисление серы до серной кислоты:



Огромные количества бесцветных серобактерий имеются в Черном море, в котором глубже 200 м вода содержит высокие концентрации  $\text{H}_2\text{S}$ . В почвах и водоемах широко распространены **нитрофицирующие бактерии**, которые извлекают энергию, необходимую для синтеза органических соединений, путем окисления аммиака и азотистой кислоты. Одним из источников аммиака является гниение белков.

Для усвоения одного атома углерода бактериям необходимо окислить 35 молекул аммиака или 135 молекул нитрита.

Процесс **нитрификации** происходит в природе в огромных масштабах и является одним из важнейших факторов плодородия почвы.

В почве распространены также бактерии, окисляющие водород, который образуется при анаэробном разложении органических остатков микроорганизмами.

Благодаря жизнедеятельности хемосинтезирующих бактерий на дне болот и морей образуются отложения селитры ( $\text{NaNO}_3$ ), железных и марганцевых руд.

При **хемосинтезе**, как и при фотосинтезе (см. рис. 6.7), основным механизмом ассимиляции  $\text{CO}_2$  является присоединение его к **рибулозофосфату** с образованием фосfogлицериновой кислоты, что показано с помощью меченого  $^{14}\text{CO}_2$ .

Представленные выше процессы фотосинтеза и хемосинтеза — источники органического вещества на Земле. Организмы, создающие вещество такими путями на основе  $\text{CO}_2$ , называются **автотрофами** (самостоятельно питающимися). Все остальные организмы, использующие органические вещества, синтезированные высшими растениями или микроорганизмами-хемосинтетиками, называются **гетеротрофами**. К ним относятся животный мир, бактерии, грибы, растения-паразиты, лишенные хлорофилла.

Характерно, однако, что гетеротрофные организмы могут ассимилировать углерод не только из готовых органических соединений, но также из оксида углерода(IV), связывая его, прежде всего, с некоторыми кетокислотами, например с **фосфоенолпируватом** (соответствующие реакции представлены в предыдущем параграфе).

Особое значение имеет гетеротрофная фиксация  $\text{CO}_2$  в условиях **синтеза жирных кислот**, реализующаяся при участии коэнзима (кофермента) биотина и коэнзима А:



Гетеротрофное усвоение корнями растений углекислого газа почвы связано с фотохимической ассимиляцией  $\text{CO}_2$  в листе. Образующиеся в листе сахара движутся вниз к корням, где они расщепляются с образованием пировиноградной кислоты. Последняя же присоединяет  $\text{CO}_2$  почвы, превращаясь в **щавелевоуксусную** кислоту, которая включается в цикл трикарбоновых кислот и продуцирует ряд органических кислот (лимонную, глутаровую, яблочную и др.).

### Вопросы и задания для самоконтроля

1. Дайте определение и проведите классификацию углеводов.
2. Покажите типы таутомерии, свойственные моносахаридам. Как отличаются по структуре крахмал и клетчатка?
3. Назовите основные стадии анаэробного дыхания (брожения) и аэробного дыхания.
4. Покажите химизм гликолиза.
5. В чем заключается центральная роль пировиноградной кислоты во всей совокупности анаэробных и аэробных процессов?
6. Из каких углеводов можно получить этанол методом брожения и какие операции следует провести при использовании полисахаридов?
7. Представьте химизм и биологическую роль пентозофосфатного окисления.
8. Какая взаимосвязь существует между аэробным и анаэробным процессами в растительных организмах?
9. Какие особенности обмена углеводов в организмах животных и человека вам известны?
10. Охарактеризуйте фотосинтез как источник всех соединений углерода на Земле.



## Глава 7

# ЛИПИДЫ — ХИМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ. КАТАБОЛИЗМ И АНАБОЛИЗМ

Термин «липиды» объединяет группу природных биологически активных веществ. Характерной особенностью этих соединений является высокое содержание в их молекулах гидрофобных (водоотталкивающих) радикалов и групп высших карбоновых кислот ( $\text{RCOOH}$ ) и спиртов ( $\text{ROH}$ ) алифатического ряда, в связи с чем они не растворяются в воде, но растворяются в органических растворителях (петролейном эфире, гексане, хлороформе, бензоле, диэтиловом эфире и др.).

С водой жиры образуют устойчивые эмульсии, которые стабилизируются поверхностно-активными веществами (ПАВ) и белками. Примером довольно устойчивой эмульсии является молоко.

Жиры и жироподобные вещества находятся в организме в двух формах. Одна из них представляет собой **резервный** (запасной) **жир**, депонируемый в жировой ткани животных, в семенах, плодах и в микроорганизмах. Гидролитическое расщепление этого жира и биологическое окисление высвобождаемых при этом жирных кислот является источником биоэнергии для жизнеобеспечения организма.

Иную физиологическую функцию выполняет так называемый **протоплазматический жир**, который включен в состав клетки и содержится в органах и тканях в постоянных количествах как в условиях длительного голодания, так и при патологическом ожирении организма. Фосфолипиды, гликолипиды, стероиды являются структурными элементами биологических мембран, окружающих протоплазму клетки, ядро, митохондрии, пластиды и лизосомы.

Жиры являются хорошими растворителями ряда биологически активных веществ (витаминов, каротиноидов и др.).

В клетках жиры и жироподобные вещества находятся в ряде случаев не столько в виде самостоятельных включений, сколько в форме нестойких ассоциативных соединений с белками (липопротеидов и протеолипидов).

Липиды подразделяются на группы, различающиеся по химическому составу, строению и функциям в организме.

## 7.1. Нейтральные жиры

Большую часть соединений группы липидов составляют нейтральные жиры — глицериды жирных насыщенных и ненасыщенных кислот (сложные эфиры на основе глицерина) общей формулы



Жиры, содержащие много двойных (олефиновых) связей, при комнатной температуре имеют жидкую консистенцию и называются **маслами**. Фрагменты жирных кислот, входящих в состав жиров и масел, имеют, как правило, неразветвленные цепи с четным числом углеродных атомов ( $C_2 - C_{24}$ ). Однако наиболее распространенными являются кислоты  $C_{14} - C_{18}$ .

Жиры содержатся в семенах более 88 % семейств растений. Среднее содержание жиров в семенах и плодах некоторых культурных растений показано в табл. 7.1.

**Таблица 7.1**

### Содержание жиров в семенах и плодах некоторых растений

Культура	Содержание жира, %	Культура	Содержание жира, %
Клещевина	60	Горчица	29—36
Кунжут	53	Конопля	30
Маслина	50	Соя	20
Арахис	49	Кукуруза	5
Подсолнечник	24—38	Пшеница, рожь, ячмень	2

Наиболее часто встречающиеся кислоты в растительных маслах представлены в табл. 7.2.

Пищевой жир — маргарин — представляет собой смесь гидрогенизированных жидких масел (подсолнечного, хлопкового).

В жирах животного происхождения повышено содержание насыщенных кислот (табл. 7.3), что обуславливает их твердую консистенцию при комнатной температуре. Если тристеарин плавится при 80 °С, то триолеин находится в жидком состоянии уже при 0 °С.

Таблица 7.2

**Содержание основных жирных кислот в растительных маслах**

Кислота	Подсол- нечное масло	Олив- ковое масло	Куку- рузное масло	Сое- вое масло	Льня- ное масло
Насыщенные кислоты					
Пальмитиновая (C <sub>16</sub> )	—	9	15	6	12
Стеариновая (C <sub>18</sub> )	9	2	15	4	12
Ненасыщенные кислоты					
Олеиновая (C <sub>18</sub> )	39	82	24	22	19
Линолевая (C <sub>18</sub> )	46	4	61	49	16
Линоленовая (C <sub>18</sub> )	—	—	—	10	52

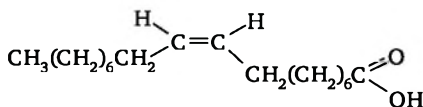
Таблица 7.3

**Содержание жирных кислот в некоторых животных жирах**

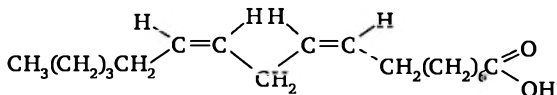
Кислоты	Жир		
	коровье масло	свиной	овечий
Насыщенные кислоты			
Масляная (C <sub>4</sub> )	4	—	—
Лауриновая (C <sub>12</sub> )	3,0	—	—
Миристиновая (C <sub>14</sub> )	7	1	2
Пальмитиновая (C <sub>16</sub> )	26	28	25
Стеариновая (C <sub>18</sub> )	16	10	26
Ненасыщенные кислоты			
Олеиновая (C <sub>18</sub> )	35	58	42
Линолевая (C <sub>18</sub> )	2,0	3	5
Арахидоновая (C <sub>20</sub> )	3	—	—

Следует при этом учитывать, что жировая ткань животных (на-  
пример, свиное сало) не состоит целиком из глицеридов. В ней всег-  
да имеются вода и соединительные прослойки.

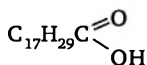
Как видно, наиболее распространенными в структуре жиров яв-  
ляются ненасыщенные кислоты. Причем, для них характерна *цис*-  
конфигурация олефиновых связей:



Олеиновая (Z-9-октадеценовая) кислота;  
 $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$ , или в сокращенной записи  $\text{C}_{18} \Delta 9$   
 (Z равнозначно -цис; знак  $\Delta$  указывает на положение олефиновой связи)



Линолевая (Z,Z-9,12-октадекодиеновая) кислота;  
 $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$ ;  $\text{C}_{18} \Delta 9, 12$



Линоленовая (Z,Z,Z-9,12,15-октадекатриеновая) кислота;  
 $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$ ;  $\text{C}_{18} \Delta 9, 12, 15$

Реже встречаются кислоты с четырьмя (арахидоновая кислота —  $\text{C}_{20}$ ) и пятью (клубанодоновая кислота —  $\text{C}_{22}$ ) двойными связями. Олеиновая и линолевая кислоты входят в состав 60 % всех мировых запасов растительных жиров. В частности, оливковое масло представляет собой в основном триолеат.

В природе, однако, образуются преимущественно смешанные глицериды, т. е. молекула глицерина в соответствии с **принципом максимальной разнородности** оказывается ацилированной тремя различными кислотами.

С термодинамической точки зрения это обусловлено естественной целесообразностью понижения стереорегулярности строения и, соответственно, температуры затвердевания вещества, что расширяет температурный диапазон функционирования липоидных структур.

Среди растительных жиров твердыми при обычной температуре являются кокосовое масло ( $t_{\text{пл}} = 30 \div 34^\circ\text{C}$ ) и масло бобов какао ( $t_{\text{пл}} = 30 \div 34^\circ\text{C}$ ).

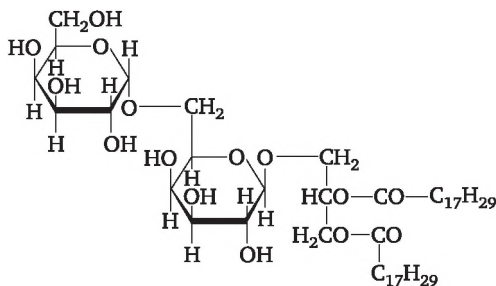
В жирах встречаются и сравнительно редкие кислоты. Так, масло плодов тунгового дерева — ценное сырье для лекарственной промышленности — на 80 % состоит из олеостеариновой кислоты



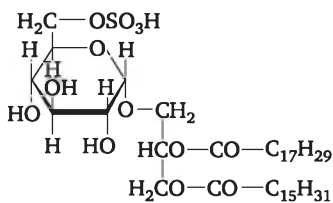
При температуре выше  $282^\circ\text{C}$  эта кислота полимеризуется и затвердевает. Обнаруживаются в жирах и кислоты, содержащие гидроксильные группы (дигидроксистеариновая, или цереброновая кислота), тройную углерод-углеродную связь, карбоциклические

фрагменты. Например, семена клещевины (*Ricinus communis*) содержат в высоких концентрациях 12-оксиолеиновую кислоту, а хаульмугровое масло, получаемое из семян *Hydnocarpus*, содержит алициклические хаульмугровую и гиднокарповую кислоты.

В ряду нейтральных глицеридов встречаются объекты, в которых кислотная компонента замещена на остаток углевода (сахара). В этом случае образуются так называемые **гликолипиды**. Заметные количества гликолипидов обнаруживаются в мембранах хлоропластов растений и фотосинтезирующих бактерий. Примеры соединений такого типа:



$\alpha$ -Дигалактозилглицерид



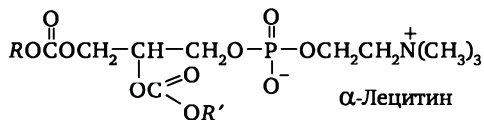
$\alpha$ -Сульфоглюкозилглицерид

В глицеридах кислотные фрагменты могут быть также замещены алкоксильными группами, образованными молекулами спиртов, енольной формой альдегидов ( $R-CH=CH-OH$ ) или стеринами. В частности, в природе встречаются простые эфиры глицерина и одноатомных спиртов (химического —  $C_{16}$ ; батилового —  $C_{18}$ ), называемые  $\alpha$ -глицерилэфирами.

## 7.2. Фосфолипиды (фосфоглицериды)

Фосфолипиды — это глицеролы, содержащие наряду с гидрофобными ацильными группами жирных кислот гидрофильные компоненты фосфорной кислоты и ее производных, включающих остатки спиртов, содержащих аминогруппу (холин  $HOCH_2CH_2N^+(CH_3)_3$ , этаноламин  $HOCH_2CH_2NH_2$ ) и другие функциональные группы. При-

мером фосфолипидов могут служить **фосфатидилхолины** общей формулы



$\beta$ -Лецитин содержит остаток фосфорной кислоты у вторичного гидроксила молекулы глицерина.

В кефалинах (или коламинфосфатидах, или этаноламин-фосфоглицеридах) холин замещен этаноламином, или коламином ( $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), а в фосфатидилсеридах — остатком аминокислоты серина ( $\text{HOCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ ). Фосфатидилхолины (лецитины) в больших количествах содержатся в яичном желтке (8—10 %), в мозге, в эритроцитах, в соевых бобах и растительных маслах. Именно из последних двух объектов лецитин получают для использования в пищевой промышленности, в частности при изготовлении шоколада, маргарина, а также в качестве добавок, предохраняющих жиры от окисления и прогоркания.

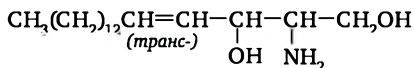
В состав фосфолипидов сои, кукурузы и арахиса наряду с лецитинами входят кефалины и фосфатидилсерины. Липиды этого типа преобладают в мембранах митохондрий.

**Ацетальфосфатиды**, или плазмогены, включают енольную форму альдегида жирного ряда. В липидах эритроцитов человека обнаружены енольные фрагменты 19 альдегидов.

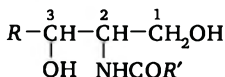
В организмах растений, животных и микробов встречаются **инозитфосфаты**, в составе которых имеется шестиатомный циклический спирт — инозит, обладающий, как известно, свойствами витамина (см. подп. 4.2.10).

### 7.3. Сфинголипиды

Сфинголипиды — это сложные эфиры сфингозиновых оснований (аминоспиртов), наиболее типичным представителем которых является сфингозин

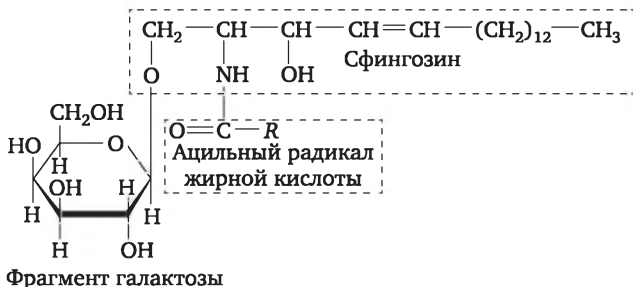


Структурной основой сфинголипидов являются **церамиды** — N-ацильные производные сфингозиновых оснований



Гидроксильная группа в первом положении может быть замещена остатком фосфорной кислоты или моносахарида.

В состав мозга входят **цереброзиды**, имеющие следующее строение:

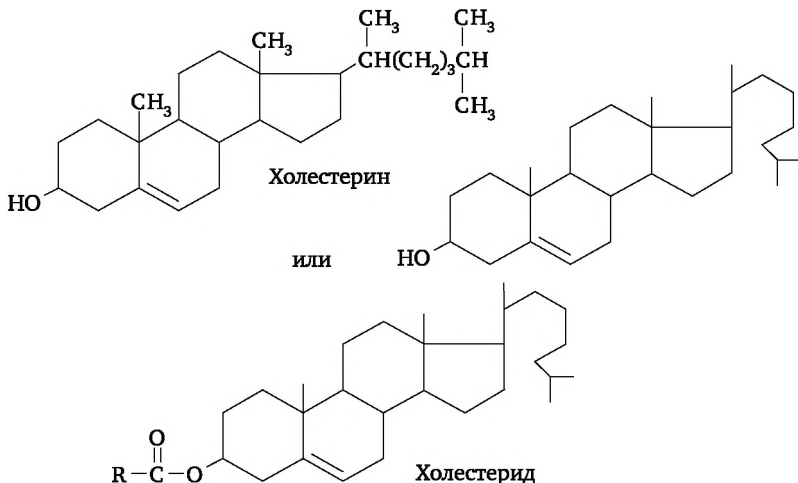


Сложным строением отличаются **ганглиозиды** — гликофинголипиды, содержащие глюкозу, галактозу, N-ацетилгалактозамин, остатки нейраминовой кислоты и образующие в ряде случаев огромные молекулы с молекулярной массой до 800 000.

Ганглиозиды широко представлены в нервной ткани и в головном мозге, выступая в качестве медиаторов нервной системы, рецепторов метаболитов мозга, токсинов и вирусов.

## 7.4. Стериды и стерины

К липоидным соединениям относят группу стеридов — сложных эфиров жирных кислот и стерinov. Последние представляют собой циклические спирты, производные циклопентанпергидрофенантрены.



В растительном и животном мире стерины находятся преимущественно в свободном состоянии. В частности, это касается стерина коровьего масла, сала, эритроцитов крови и желчи. Однако около 10 % всех стерина человеческого организма находится в виде эфиров, а в некоторых органах, например в печени, содержание стеридов достигает 50 %.

Особенно высоким содержанием холестерина высших жирных кислот отличается **ланолин** (очищенный жир овечьей шерсти).

## 7.5. Воски

Родственными жирам являются **животные и растительные воски**, которые состоят преимущественно из эфиров высших насыщенных или ненасыщенных кислот и высших одноатомных спиртов ( $C_{16}—C_{36}$ ). Воски содержат также свободные кислоты, спирты и углеводороды.

В животном воске — **спермацете** — преобладает цетиловый эфир пальмитиновой кислоты  $C_{15}H_{31}C\overset{O}{\underset{\text{OC}_{16}H_{33}}{\text{<}}}$ . **Пчелиный воск** содержит мирициловый эфир пальмитиновой кислоты  $C_{15}H_{31}C\overset{O}{\underset{\text{OC}_{31}H_{63}}{\text{<}}}$ , церотиновую кислоту ( $C_{25}$ ) и углеводороды (12—17 %).

В состав восков входят как обычные для жиров кислоты ( $C_{16}—C_{18}$ ), так и кислоты с большими молекулярными массами ( $C_{24}—C_{29}$ ) (церотиновая —  $C_{27}H_{54}O_2$ , монтановая  $C_{29}H_{58}O_2$ ) и др.

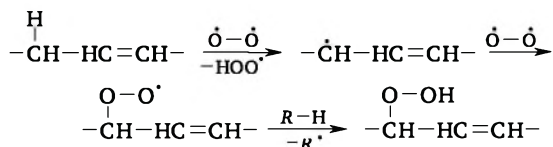
Воски в основном выполняют защитную функцию. Покрывая тонким слоем листья, стебли, плоды фруктов (винограда, яблок, груш и др.), восковой налет предохраняет их от смачивания, высыхания и поражения микроорганизмами.

В восковом налете виноградных ягод найдены свободные пальмитиновая и церотиновая кислоты, эфир пальмитиновой кислоты с высокомолекулярным спиртом энокапролом, цериловый спирт  $C_{26}H_{53}OH$ , мирициловый спирт  $C_{31}H_{63}OH$ .

**Жиры** при длительном хранении **прогоркают**, приобретают неприятный вкус и запах. Этот процесс может быть обусловлен как чисто химическими реакциями, связанными с действием света, кислорода воздуха и воды, так и действием окислительных ферментов, например **липоксидазы**. В частности, при хранении коровьего масла и маргарина прогоркание может быть вызвано уже обычным гидролизом. Освобождающаяся при этом масляная кислота придает жиру неприятный запах и вкус. Однако наиболее распространенный тип прогоркания является результатом окисления фрагментов ненасыщенных кислот кислородом воздуха, направленного на го-



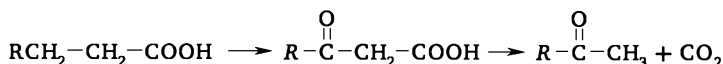
молитически подвижные С-Н-связи, находящиеся в α-положении относительно олефиновых связей и сложноэфирных групп.



Образующиеся при этом гидропероксиды могут напрямую окислять биомолекулы в структуре клетки либо распадаться на радикалы ( $\text{RO}\cdot$ ,  $\text{HO}\cdot$ ), способные далее вызывать цепные радикальные процессы **окислительной деструкции**.

Прогоркание может быть устранено либо сведено к минимуму при исключении контакта масла с кислородом или же при введении добавок антиоксидантов, имеющих зачастую фенольную природу (например, витамин Е — **токоферол**).

Прогоркание жиров, содержащих жирные кислоты  $\text{C}_6$  —  $\text{C}_{12}$ , может быть обусловлено жизнедеятельностью микроорганизмов и связано с образованием кетонов, в частности по схеме



Склонность жиров с большим содержанием углеводородных радикалов непредельных жирных кислот к автоокислению и полимеризации используется для приготовления на их основе **олиф**, **лаков** и **красок**. В этой связи растительные масла делятся на высыхающие (тунговое, льняное), полувысыхающие (подсолнечное, хлопковое) и невысыхающие (оливковое, миндальное).

Обычно жиры анализируются на предмет содержания в них:

- 1) свободных карбоновых кислот (кислотное число);
- 2) кислот, связанных в сложноэфирные группы (эфирное число);
- 3) олефиновых связей, т. е. степени ненасыщенности жира (иодное число);
- 4) пероксидных групп (пероксидное число).

## 7.6. Обмен липидов

Как уже отмечалось, начало органическим соединениям и всему живому на Земле было положено **фотосинтезом** углеводов.

В организме животного, в микроорганизмах и высших растениях углеводы трансформируются в жиры. Очень энергично образуются жиры в созревающих семенах и плодах.

Биосинтез жиров осуществляется в цитоплазме клетки.

Как будет показано далее, жирные кислоты синтезируются на основе двухуглеродных молекул **ацетил-KoA** ( $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{S}-\text{KoA}$ , или  $\text{Ac-S-KoA}$ ). Следовательно, для конструирования молекулы пальмитиновой кислоты ( $\text{C}_{16}$ ) требуется восемь таких молекул. Одна молекула глюкозы в условиях аэробного окисления продуцирует две молекулы  $\text{Ac-S-KoA}$  и две молекулы  $\text{CO}_2$ . То есть непосредственно на синтез указанной кислоты требуется четыре молекулы глюкозы. Однако, как уже отмечалось, жиры более энергоемки, чем сахара. Трансформируя глюкозу в жир, организм тем самым запасается энергией. Необходимая для синтеза жирной кислоты энергия получается за счет аэробного окисления дополнительной порции глюкозы. Весьма производительным в этом плане, как показано в п. 6.2, являются «сгорание» молекул в цикле **трикарбоновых кислот** (ЦТК) и окисление образующегося при этом водорода в **дыхательной цепи**. Эти процессы связаны с образованием  $\text{CO}_2$  и расходом кислорода.

Итак, синтез жирных кислот происходит при доступе кислорода с интенсивным образованием  $\text{CO}_2$  и связан со значительными затратами энергии.

Формально синтез молекулы стеариновой можно представить уравнением



Энергозатраты на 1 моль потребленной глюкозы составляют порядка 792,0 кДж.

Как видно, дыхательный коэффициент  $\text{CO}_2/\text{O}_2$  в этом случае должен быть равным трем, что подтверждается, естественно, с определенной погрешностью, на практике.

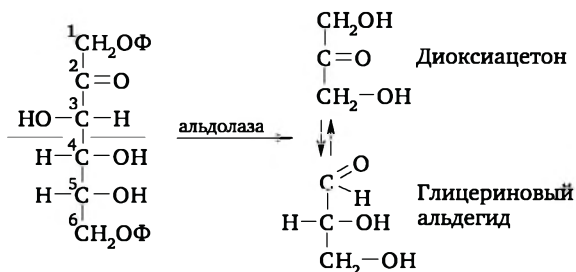
### 7.6.1. Биосинтез липидов

Схема синтеза жира из углеводов представляется следующим образом:

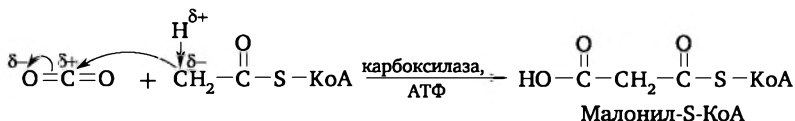


Главным источником компонентов жира являются глюкоза и фруктоза. Однако некоторые микроорганизмы, например различные виды *Fusarium*, образуют жир из пентоз, а пекарские дрожжи (*Torulopsis lipofera* и др.) — из пировиноградной и уксусной кислот, этилового спирта и ацетальдегида. Уксусная кислота легко превращается в жир в организмах животных и высших растений.

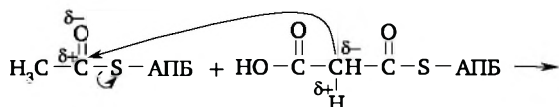
Глицерин, необходимый для синтеза жиров, образуется путем восстановления глицеринового альдегида, который в свою очередь продуцируется фруктозодифосфатом под действием фермента альдолазы:

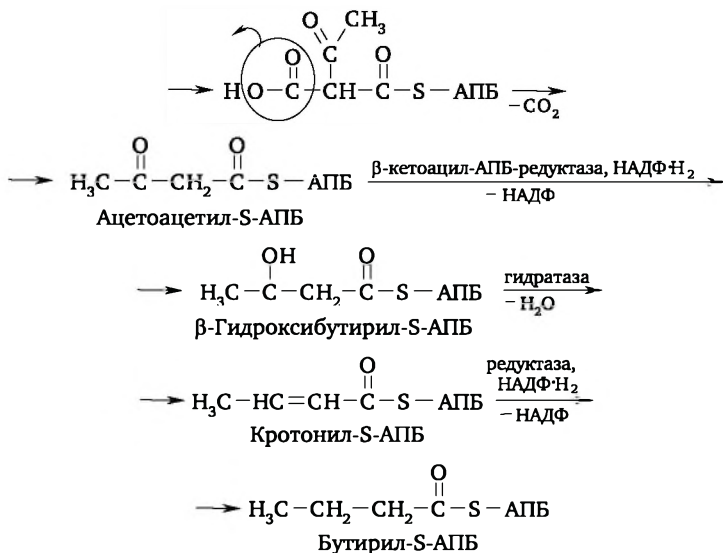


Метаболическая цепь превращений, связанных с биосинтезом жирных кислот, начинается со взаимодействия ацетилированного по группе SH кофермента А ( $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{S}-\text{KoA}$ ) с  $\text{CO}_2$ , в результате чего образуется производное малоновой кислоты — **малонил-S-KoA**:



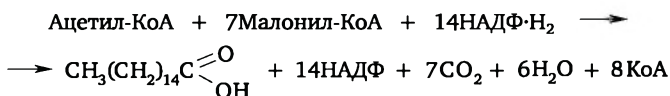
Реакция катализируется ферментом карбоксилазой, в структуру которого включен кофермент **биотин**. Далее реализуется **биологический аналог малонового синтеза**: новая молекула ацетил-S-KoA ацетирует образовавшийся малонил-KoA по метиленовой группе ( $\text{CH}_2$ ) с последующим декарбоксилированием продукта ацилирования. Предварительно переносчик ацильных радикалов — кофермент А — под влиянием трансфераз замещается **ацилпереносящим белком** (АПБ), включенным в синтетазу жирных кислот (полифункциональный комплекс шесть ферментов).





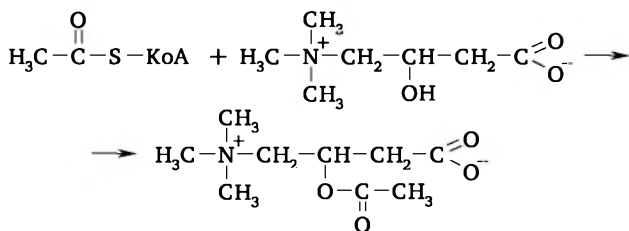
На следующей стадии образовавшийся **бутирил-S-АПБ** ацилирует новую молекулу малонил-S-АПБ. И снова реализуются декарбоксилирование  $\beta$ -кетокислоты и цепь превращений, показанных выше, с образованием ацильного производного гексановой кислоты. Таким образом, каждая последующая молекула малонил-S-АПБ удлиняет цепь синтезируемой кислоты на два атома углерода.

Суммарное уравнение синтеза, например, пальмитиновой кислоты отражает участие семи молекул малонил-KoA:

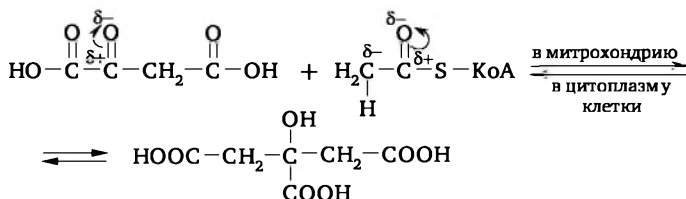


Используемый в качестве исходного материала ацетил-KoA образуется в процессе  $\beta$ -окисления жирных кислот в митохондриях и при окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты в процессе метаболизма углеводов.

Характерно, что митохондриальные мембраны непроницаемы для молекулы ацетил-KoA. Чтобы преодолеть этот барьер, они претерпевают некоторые трансформации и вновь восстанавливаются в цитоплазме клетки. В частности, перенос ацетильного фрагмента через мембраны может осуществлять **карнитин** ( $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -триметиламмонийбутират) за счет ацилирования группы OH:



Перенос ацетил-KoA осуществляет также **щавелевоуксусная кислота**, образуя под действием фермента цитрат-синтетазы **лимонную кислоту**:



Ацетил-KoA способен также ферментативно превращаться в ацетатную форму, проникающую в цитоплазму.

**Ненасыщенные кислоты** синтезируются в аэробных условиях в результате дегидрирования насыщенных кислот. В процесс биосинтеза этих кислот вовлекаются и реакции удлинения углеродной цепи. В отличие от растительных в животных организмах образуются обычно моноеновые кислоты — олеиновая и пальмитоолеиновая, содержащие двойную связь в девятом положении.

В организме животного **биосинтез триацилглицеролов** осуществляется в слизистой оболочке кишок, печени, жировой клетчатке и в других органах. В основе этих процессов лежит ацилирование глицерол-3-фосфата с помощью ацил-KoA под влиянием глицеролфосфат-ацилтрансфераз, локализованных в микросомах.

Кроме этих процессов источником запасных триацилглицеролов могут быть так называемые экзогенные глицеролы, поступающие в организм с пищей.

Регуляция процессов запасаения и использования липидов, поступающих с пищей, осуществляется при участии печени и жировой ткани под контролем **нервной** и **гормональной** систем.

Экзогенные триацилглицеролы расщепляются **панкреатической липазой** с участием эмульгаторов — солей **желчных кислот** — главным образом на моноацилглицеролы и свободные жирные кислоты. После всасывания продуктов гидролиза жиров в эпителиальных клетках происходит ресинтез триацилглицеролов за счет этерифи-

кации моноацилглицеролов. Такой метаболический путь называется моноацилглицероловым **шунтом**.

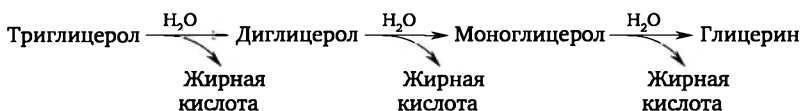
В клетках жировой ткани жиры откладываются в виде капелек и в таком виде не могут трансформироваться в органы и ткани. Транспортировке липидов предшествует их гидролиз. Жирные кислоты с длинной углеродной цепью не растворяются в воде, поэтому они транспортируются в виде комплексов с сывороточным альбумином (белком).

**Метаболизм фосфолипидов** характеризуется синтезом большого числа промежуточных продуктов и наличием альтернативных путей биосинтеза, ключевое положение в которых занимает биосинтез фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов при участии цитидиновых ферментов (биосинтез *de novo*).

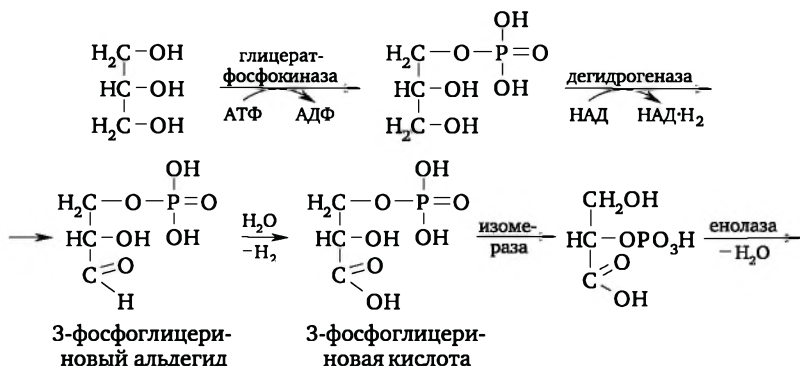
Синтез эфиров холестерина может осуществляться как прямым ацилированием его жирными кислотами под влиянием фермента холестеролэстеразы, так и в результате переэтерификации с участием фосфатидилхолинов.

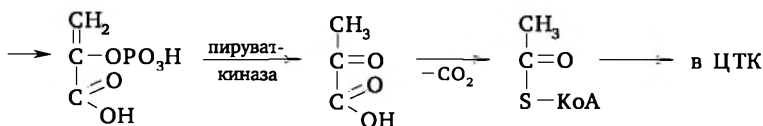
### 7.6.2. Диссимиляция (катаболизм) жиров

В растительных тканях диссимиляция жиров наиболее интенсивно протекает в прорастающих семенах масличных культур. Первоначальная стадия — гидролиз глицеролов — протекает под действием фермента липазы:



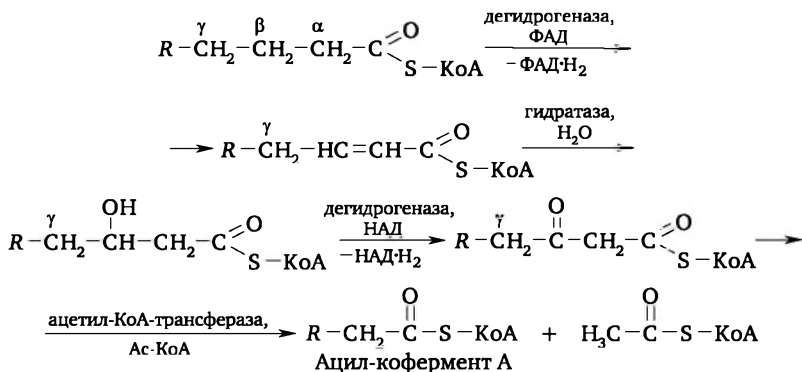
Глицерин окисляется при участии фосфорной кислоты — в виде фосфоглицерина (или глицеринфосфорной кислоты) — по обычному пути окисления углеводов





Известно три типа окисления жирных кислот:  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\omega$ -окисления. Наиболее важным является  **$\beta$ -окисление**. Суть его заключается в том, что ферменты атакуют  $\beta$ -положение молекулы кислоты  $\text{R}-\overset{\beta}{\text{CH}_2}-\overset{\alpha}{\text{CH}_2}-\text{COOH}$  и последовательно отщепляют от нее двухуглеродные фрагменты в виде молекул ацетил-S-KoA ( $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{S}-\text{KoA}$ ), выполняющих в клетке двойную функцию. **Первое** их предназначение заключается в том, что «сгорая в котле» цикла трикарбоновых кислот (ЦТК), они продуцируют большое количество энергии (см. п. 6.2), аккумулируемой в молекулах АТФ. **Вторым** направлением их использования является синтез целого ряда метаболитов. В частности, через серию реакций глиоксилатного цикла (см. п. 6.2) на основе Ас-S-KoA синтезируются углеводы (глюконеогенез).

$\beta$ -Окисление жирной кислоты включает в себе следующие стадии:



Образовавшийся ацилкофермент А подвергается окислительной деструкции по той же схеме.

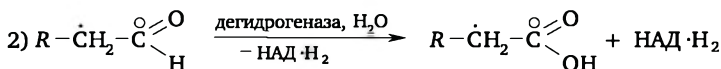
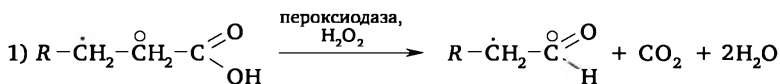
$\beta$ -Окислению молекулы RCOOH предшествуют ее активация в цитоплазме клетки и транспорт в виде ацил-KoA сквозь мембрану в матрикс митохондрий. Активация жирной кислоты осуществляется под влиянием ферментов **ацил-KoA-синтетаз**. Сначала образуется смешанный ангидрид RCOOH и фосфорного остатка аденозинмонофосфата, а затем соответствующий ацил-KoA.

Транспорт последнего в матрикс митохондрий, как и в случае отмеченного выше транспорта ацетил-KoA, осуществляет **карнитин** под действием фермента карнитин-ацилтрансферазы.

Таким образом, пальмитиновая ( $C_{16}$ ) кислота в процессе семи циклов  $\beta$ -окисления образует восьми молекул ацетил-S-KoA.

В каждом цикле  $\beta$ -окисления образуется 1 моль ФАДН<sub>2</sub> и 1 моль НАДН<sub>2</sub>, которые дают при окислении в дыхательной цепи соответственно два и три моля АТФ. Следовательно, в течение семи циклов  $\beta$ -окисления образуется 35 молей АТФ. Возникающие при этом восемь молекул ацетил-KoA сторают при восьми оборотах цикла трикарбоновых кислот, аккумулирующих энергию в  $12 \cdot 8 = 96$  молекул АТФ. Всего при окислении молекулы пальмитиновой кислоты всего образуется  $35 + 96 = 131$  молекула АТФ. И лишь одна молекула АТФ затрачивается на первой стадии активации молекулы жирной кислоты.

В растительных тканях имеет место также  $\alpha$ -окисление, в котором можно выделить две стадии. На первой стадии осуществляется направленное на  $\alpha$ -углеродный атом кислоты окисление пероксидом водорода, катализируемое пероксидазой жирных кислот. Далее альдегидная группа окисляется в карбоксильную.



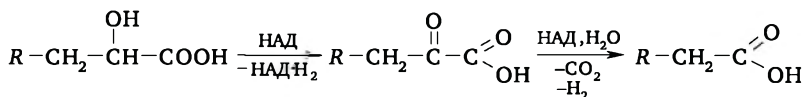
$\alpha$ -Окислению подвергаются кислоты  $C_{15} - C_{18}$  с укорачиванием цепи до  $C_{14}$ .

Не исключено, что образованию альдегида предшествует образование  $\alpha$ -оксикислоты.

$\alpha$ -Оксикислоты, образующиеся при окислении жирных кислот в растительных тканях и микросомах мозга, имеют самостоятельное значение. В частности, они входят в состав ганглиозидов и цереброзидов головного мозга.

Синтез  $\alpha$ -оксикислот обеспечивает монооксигеназа, требующая участия молекулярного кислорода,  $Fe^{2+}$  и аскорбиновой кислоты.

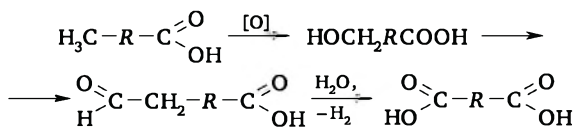
Оксикислота под влиянием НАД-зависимых дегидрогеназ может окисляться в  $\alpha$ -кетокислоту и далее подвергаться окислительному декарбоксилированию с образованием жирной кислоты с нечетным числом атомов углерода



Наконец, жирные кислоты, преимущественно со средней длиной цепи, могут подвергаться  $\omega$ -окислению ( $\omega$  — от последней буквы



греческого алфавита). Последний атом углерода карбоновой кислоты подвергается действию кислорода по классической схеме с образованием в конечном счете дикарбоновой кислоты:



Такой тип окисления обнаружен в бактериальных клетках и в печени млекопитающих.

Окисление ненасыщенных жирных кислот нуждается в содействии дополнительных ферментных систем, превращающих *цис*-конфигурацию двойных связей в *транс*-конфигурацию и перемещающих их по цепи.

### 7.6.3. Особенности обмена липидов в организмах животных

Обмен липидов у животных связан, во-первых, с превращением липидов в желудочно-кишечном тракте (т. е. с перевариванием и всасыванием липидов пищи) и, во-вторых, — с внутриклеточным обменом.

Растительные и животные жиры гидролизуются преимущественно в тонком кишечнике под влиянием липолитических ферментов, вырабатываемых поджелудочной железой. Предварительно жиры **эмульгируются** под действием солей желчных кислот, моноглицеридов жирных кислот и самих кислот. Естественно, что неэмульгированные липиды, включенные в мембраны клеток, липазами не затрагиваются.

Триглицериды гидролизуются быстро, диглицериды — медленно, а моноглицериды — еще медленнее. Моноглицериды образуют с солями желчных кислот мицеллы, всасываемые стенкой кишечника, где они служат исходным материалом для ресинтеза триглицеридов, которые затем поступают в лимфу в виде мелкодисперсных частиц — **хиломикронов**.

У взрослых жвачных переваривание липидов пищи осуществляется главным образом внеклеточными липазами микроорганизмов **рубца**.

Фосфолипиды, поступающие с пищей, расщепляются группой ферментов под названием **фосфолипазы**.

**Внутриклеточный обмен липидов** включает процессы **биосинтеза** липидов, в частности, из углеводов, **мобилизации** липидов в виде липопротеидов крови и тканей, образующихся под влиянием липопротеидлипаз, а также **окислительное расщепление** (прежде всего,  $\beta$ -окисление) жирных кислот с целью извлечения энергии.

К внутриклеточному обмену относятся также процессы превращения фосфолипидов, сфинголипидов, гликолипидов и стеридов, связанные с функционированием биологических мембран и образованием физиологически активных соединений.

В организме осуществляется непрерывный круговорот: поступающие извне жиры, как и другие биомолекулы жизни (углеводов, белков), подвергаются катаболизму до изначальных «кирпичиков», а затем осуществляется создание тех же структур, но своих **собственных, специфических** для данного организма.

### **Вопросы и задания для самоконтроля**

1. Дайте определение липидов и проведите их классификацию.
2. Почему жиры при хранении прогоркают? В чем суть автоокисления жиров?
3. В чем суть биологического окисления жирных кислот? Какова энергетическая функция кислот? Охарактеризуйте  $\beta$ -,  $\alpha$ - и  $\omega$ -окисление кислот.
4. Представьте механизм синтеза жирных кислот на основе малонил-КоА.

## Глава 8

# БЕЛКИ И АМИНОКИСЛОТЫ — СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

### 8.1. Общая характеристика. Биологическая роль

Аминокислоты и продукты их конденсации — полипептиды и белки — являются «краеугольным камнем» «здания» живой природы. По образному выражению Ф. Энгельса, жизнь — это форма существования белковых тел. В живой материи все виды обмена: углеводный, липидный, нуклеиновокислотный и минеральный — направлены к одной цели — воспроизводству белковой субстанции.

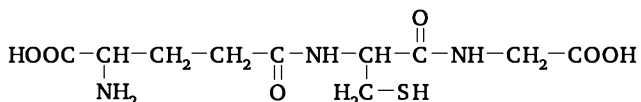
В организмах животных белки составляют 14—23 % свежей ткани и 45—80 % сухой массы. Они являются структурными элементами мышц и тканей, внутренних органов и крови, волос и перьев, входят в состав ферментов, гормонов, антител и большого множества физиологически активных веществ.

Аминокислоты участвуют в биосинтезе пиррольных производных — порфиринов, пиримидиновых и пуриновых оснований, включающихся в нуклеотиды и нуклеиновые кислоты.

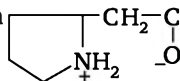
Известны и растительные организмы с большим содержанием белка (соя, горох и некоторые другие), однако в большинстве растительных клеток содержание белка незначительно. Но их функциональная роль исключительно велика. Приведем лишь некоторые примеры их биологических функций.

Аминокислоты включены в цитоплазму и ядро клетки. В растительных, как и в животных, клетках широко распространены **протектитические ферменты** — **катепсины**, осуществляющие внутриклеточный гидролиз белковых молекул.

В зернах пшеницы, растительных клетках, дрожжах, в печени и красных кровяных тельцах обнаружен сильный восстановитель — **глутатион**, состоящий из остатков аминокислот: гликокола, цистеина и глутаминовой кислоты.

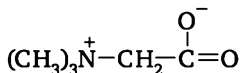


Аминокислоты и белки в ряде случаев обеспечивают выживаемость растений в экстремальных условиях. Так, одним из проявлений биохимической адаптации растений к засухе является накопление в клетках аминокислоты **пролина**



у ячменя в этих условиях содержание пролина может достигать 30 % пула, т. е. суммарного количества аминокислот. По-видимому, пролин способствует удерживанию воды в клетках.

Накопление в клетках пролина и **глицинбетаина**



является адаптивным ответом ряда растений на повышение засоленности грунта (**солевой эффект наоборот** — органические ионы препятствуют проникновению в физиологический раствор клетки неорганических ионов).

В природе встречаются более 300 **небелковых аминокислот**. Особенно они распространены в семенах бобовых. Большое число небелковых аминокислот и белков относится к ряду азотсодержащих токсинов растений. Их экологическая функция заключается в защите семян от уничтожения, в частности, насекомыми.

Некоторые из них представлены в табл. 8.1.

Отметим в этой связи некоторые токсичные белки.

**Арбин** — белок семян *Abrus precatorius*. Токсичен для животных. Летальная доза для человека — 0,5 мг. При температуре выше 65 °С теряет токсичность.

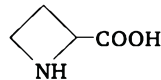
**Рицин** — белок клещевины обыкновенной (*Ricinus communis*). Протоплазматический яд.

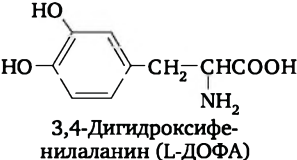
**Фитогемагглютинины** — белки, найденные в семенах бобовых и других растений. Способны коагулировать эритроциты крови и в этой связи используются для определения группы крови. Токсичны для насекомых.

Токсичные пептиды встречаются у высших растений и грибов.

Таблица 8.1

Примеры небелковых аминокислот

Аминокислота	Биологическая активность
 <p>Азетидин-2-карбоновая кислота</p>	<p>Антиметаболит. Неадаптированные к ней растения и животные ошибочно включают ее вместо пролина в белок, что приводит к образованию дефектного фермента, неспособного нормально функционировать. Ингибирует синтез и утилизацию пролина</p>

Аминокислота	Биологическая активность
 <p>3,4-Дигидроксифенилаланин (L-ДОФА)</p>	Относительно безвреден для млекопитающих и даже используется для лечения болезни Паркинсона, но токсичен для насекомых. При дегидрировании превращается в хиноидное соединение (дофхинон), используемый в биосинтезе пигментов — меланинов
$\text{NCCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ $\beta$ -Цианоаланин	Найден в семенах видов <i>Vicia</i> . Токсичен для млекопитающих. Вызывает конвульсии и смерть крыс при введении дозы 200 мг/кг веса

Очень токсичным для всех живых организмов является так называемый **селенопротеин**. Селен, как аналог серы по шестой группе периодической системы элементов, может заменять ее в биохимических системах, включаясь в аминокислоты, а затем и в белок. Из почвы через растения селен попадает в организм животных (в частности, на пастбищах), вызывая симптомы отравления, вплоть до хронических заболеваний и смерти, в том числе и среди людей. Одним из симптомов отравления селеном у овец является выпадение шерсти с образованием плешей.

Источником белка для человека и животных являются пищевые продукты растительного и животного происхождения. Некоторые из них представлены в табл. 8.2.

Таблица 8.2

Содержание белка в пищевых продуктах, %

Название продукта	Содержание белка	Название продукта	Содержание белка
Соя	35	Орехи лесные	12
Горох	26	Макароны	9—13
Сыр	20—36	Гречневая крупа	11
Мясо	18—22	Молоко	3,5
Рыба	17—20	Картофель	1,5—2
Яйца	13	Свекла	1,6

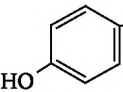
## 8.2. Аминокислоты — строение и свойства

Основу белков составляют 20 аминокислот. Некоторые из них содержат кроме карбокси- и аминогрупп другие функциональные

группы ( $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $=\text{NH}$  и др.), ароматические ядра, азотсодержащие гетероциклы. Примеры:

$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$   
Гликокол, или  
глицин (*Gly*); изо-  
электрическая  
точка ( $pI$ ) 6,0

$\text{CH}_2\text{CHCOOH}$   
 $\text{OH NH}_2$   
Серин (*Ser*)

  
Тирозин (*Tyr*);  $pI$  5,7

$\text{CH}_3\text{CHCOOH}$   
 $\text{NH}_2$   
Аланин (*Ala*)

$\text{CH}_2\text{CHCOOH}$   
 $\text{SH NH}_2$   
Цистеин (*Cys*);  
 $pI$  5,1

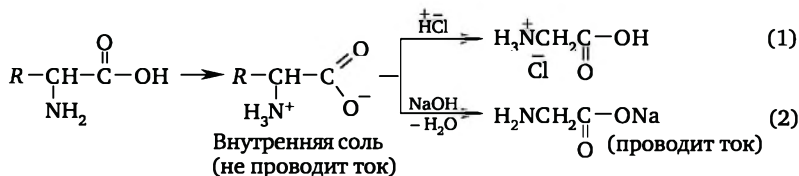
$\text{HOOCCH(NH}_2\text{)-CH}_2\text{-CH}_2\text{CH(NH}_2\text{)-COOH}$   
Цистин (*Cys-S-S-Cys*);  
 $pI$  5,0

Аминокислоты по взаимному расположению карбоксильной и аминогрупп делятся на  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -аминокислоты и т. д.

Все природные аминокислоты, кроме аминокислоты, содержат асимметрический атом углерода и относятся к *L*-ряду.

Аминокислоты обладают всеми свойствами амино- и карбоксильных групп. Вместе с тем ди- или полифункциональность молекулы аминокислоты обуславливает ряд их специфических свойств.

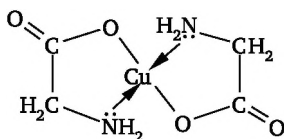
#### 1. Образование внутренних солей и комплексных соединений.



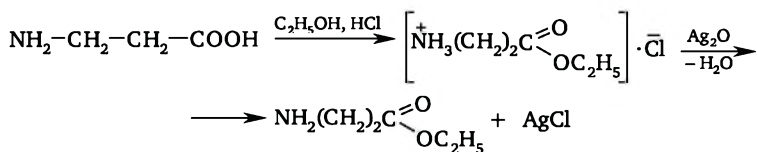
Внутренняя соль характеризуется строго определенной для каждой аминокислоты концентрацией водородных ионов, т. е.  $pH$  (изоэлектрической точкой —  $pI$ ). При электролизе такого раствора аминокислота не перемещается ни к катоду, ни к аноду, так как анион и катион связаны углеводородным звеном. Искусственное изменение  $pH$  раствора разрушает внутреннюю соль — в растворе возникают кинетически самостоятельные ионы, проводящие ток. Значение  $pI$  аминокислот варьируется в широком диапазоне — от 2,77 для аспаргиновой кислоты ( $\text{HOOCCH}_2\text{CH(NH}_2\text{)COOH}$ ) до 10,76 для аргинина

( $\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{NH}}{\text{C}}-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{CH(NH}_2\text{)COOH}$ ).

$\alpha$ -Аминокислоты образуют с ионами переходных металлов характерные комплексные соединения, структура которых показана на примере комплекса меди с аминокислотой:

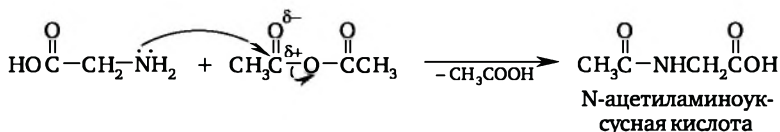


2. **Этерификацию аминокислот** проводят, как обычно, действием спирта в кислой среде (чаще всего используют HCl). Однако при этом образуются соли эфиров аминокислот, из которых свободные эфиры можно получить нейтрализацией кислоты. Например, гидрохлорид удаляется триэтиламиноом, оксидом серебра или свинца:

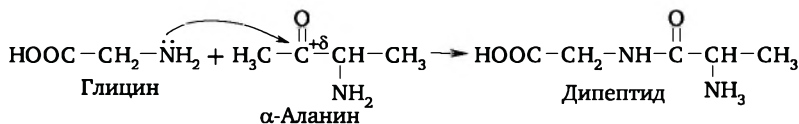


Именно этерификацией набора аминокислот, образующихся в результате гидролитического расщепления белка, разгонкой в вакууме полученных эфиров и последующим их гидролизом выделяют индивидуальные аминокислоты.

3. **Ацилирование аминокислот.** Из двух носителей нуклеофильных свойств в молекуле аминокислоты  $\text{--NH}_2$ ,  $\text{--C}(=\text{O})\text{OH}$  аминогруппа намного более нуклеофильна. Поэтому она в первую очередь подвергается действию ацилирующих и алкилирующих агентов.

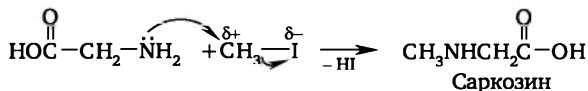


Важнейшим свойством аминокислот является ацилирование аминогруппы одной молекулы за счет карбоксильной группы второй молекулы.

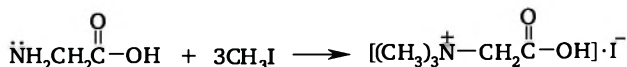


Именно такого типа реакции лежат в основе поликонденсации ряда аминокислот в определенной последовательности, ведущей к образованию полипептидов и белков.

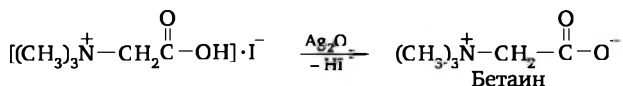
4. **Алкилирование аминокислот.** Стандартный алкилирующий агент — иодистый метил.



При избытке иодистого метила реакция протекает с полным метилированием аминогруппы:

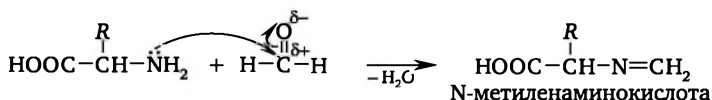


При отщеплении от последнего соединения HI образуется **бетаин** (полностью алкилированная внутренняя соль аминокислоты):



Бетаины солеобразны (тверды, нелетучи, водорастворимы), обладают большим дипольным моментом.

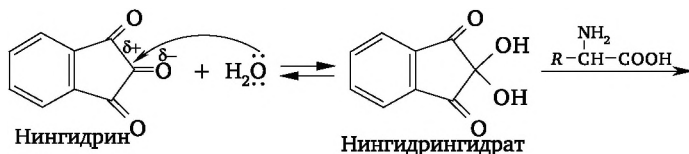
Аминогруппа аминокислот легко взаимодействует с **формальдегидом**:



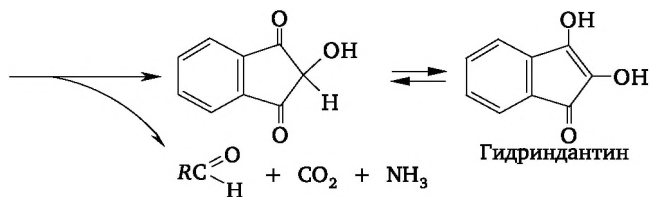
На этой реакции основан **метод формольного титрования**, используемый для количественного определения аминокислот — блокирование аминогрупп позволяет оттитровать карбоксильные группы щелочью.

5. Некоторые аналитические реакции на аминокислоты и полипептиды:

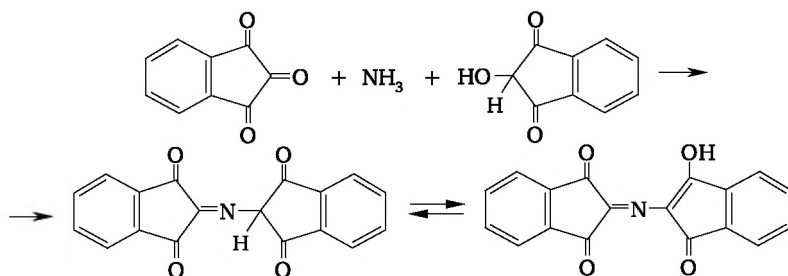
а) **нингидриновая реакция.** При нагревании (до 70 °С) α-аминокислоты окисляются нингидрином (трикетогидринденгидратом) с образованием аммиака, альдегида и CO<sub>2</sub> (окислительное декарбоксилирование и дезаминирование). Нингидрин при этом восстанавливается:





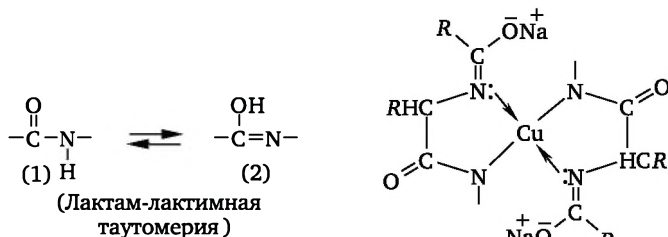


Гидриндантин реагирует с избытком нингидрина в присутствии аммиака с образованием полициклического соединения сине-фиолетового цвета с максимумом поглощения около 570 нм:



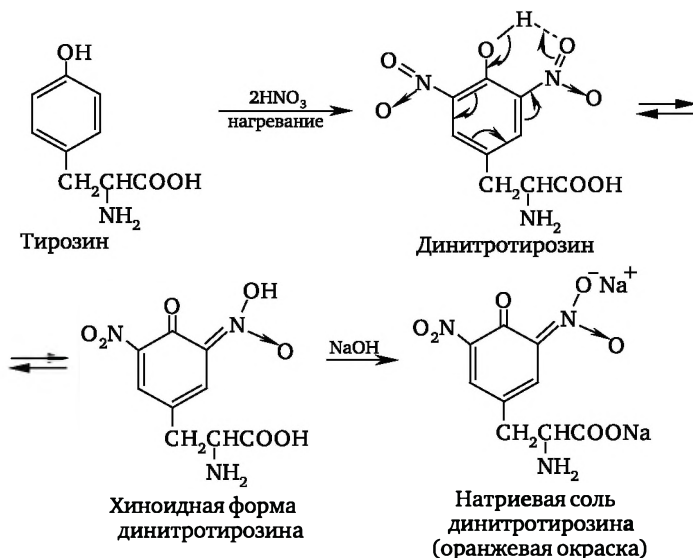
Нингидриновая реакция используется в колориметрическом методе количественного определения  $\alpha$ -аминокислот и в хроматографии;

б) **биуретовая реакция** на пептидные связи. При обработке пептидов и белков солями меди в щелочной среде образуются комплексы сине-фиолетового цвета. В комплексообразование от каждой из двух макромолекул вступают в качестве лигандов пептидное звено (1) и соседнее звено в таутомерной форме (2).



В подобную реакцию вступает **биурет** ( $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}_2$ ) — простейшее соединение, содержащее две амидных группы, на основании чего и названа эта реакция;

в) **ксантопротеиновая реакция** на ароматические аминокислоты (тирозин, триптофан, фенилаланин):

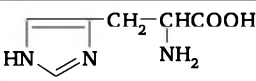
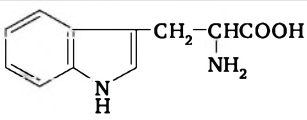
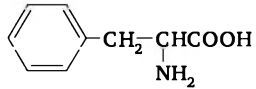


Поступающие в организм извне белки подвергаются гидролитическому расщеплению до аминокислот и пептидов. На основе этого материала осуществляется ресинтез (анаболизм) новых белков, специфических для данного организма. При этом некоторые аминокислоты синтезируются из метаболитов небелкового происхождения. Однако, как будет показано ниже, девять аминокислот (табл. 8.3) относятся к разряду незаменимых, т. е. не синтезируемых в организме.

Таблица 8.3

**Незаменимые для животных организмов аминокислоты**

Название аминокислоты (условное обозначение)	Формула	$t_{пл}$ , °C	Изоэлектрическая точка (pI)
Валин (Val)	$(CH_3)_2CH-\underset{\substack{  \\ NH_2}}{CH}COOH$	315	5,96
Лейцин (Leu)	$(CH_3)_2CHCH_2\underset{\substack{  \\ NH_2}}{CH}COOH$	337	5,98
Изолейцин (Ile)	$C_2H_5-\underset{\substack{  \\ H_3C}}{CH}-\underset{\substack{  \\ NH_2}}{CH}COOH$	284	6,02
Треонин (Tre)	$CH_3\underset{\substack{  \\ OH}}{CH}-\underset{\substack{  \\ NH_2}}{CH}COOH$	253	6,16

Название аминокислоты (условное обозначение)	Формула	$t_{пл}, ^\circ\text{C}$	Изоэлектрическая точка (pI)
Метионин ( <i>Met</i> )	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCOOH} \\   \quad \quad   \\ \text{CH}_3\text{S} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	283	5,74
Лизин ( <i>Lys</i> )	$\begin{array}{c} \text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CHCOOH} \\   \quad \quad   \\ \text{NH}_2 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	224	9,74
Гистидин ( <i>His</i> )		277	7,5
Триптофан ( <i>Try</i> )		382	5,89
Фенилаланин ( <i>Phen</i> )		275	5,5

### 8.3. Структура и классификация белков

Структура белка определяется наличием многих типов связей и слабых взаимодействий внутри макромолекул и между молекулами. Существует понятие о **четырёх уровнях** структуры белков.

**Первичную структуру** белковой молекулы составляет скелет ковалентных связей, в том числе ковалентные мостиковые связи, подобные дисульфидной или фосфатной.

В основе **вторичной структуры** лежат водородные связи между амидными группами ( $\text{>C=O} \cdots \text{H-N-CO-R}$ ) полипептидной цепи, которые во многом определяют спиралевидное закручивание белковой молекулы. Энергия одиночной водородной связи невелика (4—12 кДж/моль), однако таких связей в белковой молекуле может быть несколько сотен или тысяч, так что их общая энергия может достигать больших значений.

Известны три типа вторичной структуры белковых молекул:  **$\alpha$ -спиральная**,  **$\beta$ -складчатая** и структура типа **коллагеновой спирали** (Л. Полинг, Р. Кори).

Фибриллярные  **$\alpha$ -кератины** (кожа, шерсть, перья) состоят из полипептидных цепей, имеющих правую  $\alpha$ -спиральную конфигурацию. В этом случае цепи сворачиваются таким образом, что возможно образование водородных связей между амидными водо-

родными атомами и карбонильными группами, разделенными четырьмя аминокислотными фрагментами.

Для других фибриллярных белков ( $\beta$ -кератина, фиброина) характерна  $\beta$ -складчатая структура, которая образуется параллельно размещенными вытянутыми фрагментами одной или нескольких полипептидных цепей.

Третий тип структуры — коллагеновая спираль, состоящая из трех спирализованных цепей. Эти цепи закручиваются одна вокруг другой, образуя суперспираль.

Упорядоченная структура белка обеспечивается также системой взаимодействий, составляющих **третичную структуру** молекулы. К этой системе относятся взаимодействия между фрагментами молекулы за счет сил Ван-дер-Ваальса, агломерация лиофобных боковых цепей при отталкивании молекул растворителя, нехарактерные водородные связи, межионные взаимодействия (рис. 8.1). Энергия каждой из этих сил невелика, однако их суммарное действие значительно. Так, энергия ван-дер-ваальсовского взаимодействия, приводящего к глобулярному свертыванию белковой молекулы, достигает 2100—2500 кДж/мол.

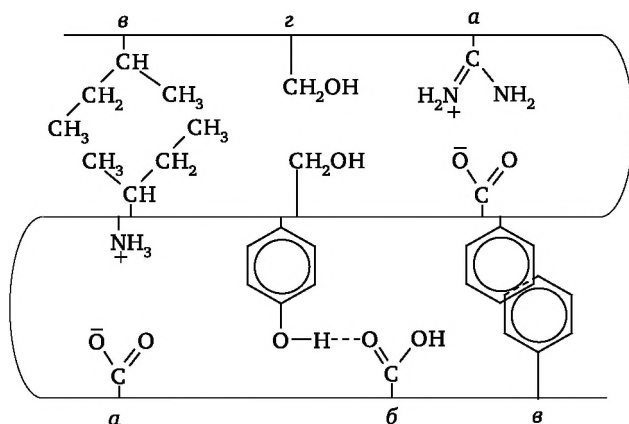


Рис. 8.1. Типы взаимодействия в молекуле белка, составляющие его третичную структуру:

а — электростатическое взаимодействие; б — водородная связь;  
в — взаимодействие неполярных групп путем вытеснения молекул растворителя; з — силы Ван-дер-Ваальса

Межмолекулярные взаимодействия обуславливают формирование **четвертичной структуры**, которая проявляется в образовании сложных молекул, ферментных комплексов и ассоциатов, нуклеопротеидов, липопротеидов, гликолипидов, а также мицелл, фибрилл и других макроструктур.

На уровне создания такого типа упорядоченных структур резко возрастает значение **слабых взаимодействий**.

Что касается **структуры белков**, то в зависимости от формы и конформации макромолекул они разделяются на **глобулярные** и **фибриллярные**. Глобулярные белки имеют шарообразную или эллипсоидную форму молекул. К ним относятся практически все известные ферменты, растворимые белки сыворотки крови, антитела, некоторые гормоны.

Фибриллярные белки состоят из вытянутых нитевидных молекул. К этой группе относятся белки мышц (миозин), волос (кератин), шелка (фиброин).

По составу и физико-химическим свойствам белки разделяют на **простые** (протеины) и **сложные** (протеиды).

**Протеины** при гидролизе дают только аминокислоты. В случае же протеидов при гидролизе образуются наряду с аминокислотами вещества небелковой природы, называемые **простетическими** группами. В качестве таких групп могут выступать фрагменты гетероциклов, фосфорной кислоты, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот.

Однако и простые белки в процессе метаболизма могут подвергаться химической модификации (фосфорилированию, ацетилированию, метилированию и др.).

К протеинам относятся альбумины, глобулины, протамины, проламины, гистоны, глютелины, протеиноиды. Альбумины и глобулины широко распространены в клетках растительных и животных организмов.

**Альбумины** содержатся в цитоплазме клеток, в крови, лимфе, характеризуются высоким содержанием лейцина (до 15 %), лизина, аспаргиновой и глутаминовой кислот ( $M = 35\,000 \div 70\,000$ , изоэлектрическая точка  $pI\,4,6\text{—}4,7$ ). Альбумины хорошо растворяются в воде и солевых растворах, высаливаются сульфатом аммония (в пределах насыщения 80—100 %).

Некоторые из альбуминов выделены в кристаллическом виде (бичий сывороточный альбумин, яичный альбумин и др.).

**Глобулины** близки по составу к альбуминам, содержат много глицина (3—4 %), являются глобулярными белками ( $M = 90\,000 \div 1\,500\,000$ ), плохо растворяются в солевых растворах и не растворяются в воде. Глобулины выполняют в организме защитные функции. В частности, в таком качестве хорошо известны  $\gamma$ -глобулины (специфические антитела). Белок из ряда глобулинов — **фибриноген** — участвует в процессах свертывания крови.

**Глутелины** и **проламины** — белки растительного происхождения. К глютелинам относятся глутенин — белок зерна пшеницы, глутелин — белок зерна кукурузы, оризенин. Глутелины найдены в листьях многих растений.

Белки этого типа не растворяются в воде, но растворяются в разбавленных растворах кислот и щелочей.

**Проламины** отличаются высоким содержанием аминокислоты пролина (до 15 %), хорошо растворяются в 70—80%-ном спирте, что используется для их выделения и очистки. К проламинам относятся зеин (семена кукурузы), глиадин (рожь, пшеница), гордеин (ячмень). Проламины образуют основную массу клейковины семян, придающей тесту характерную консистенцию.

**Гистоны и протамины** — сильноосновные белки ( $M = 4000 \div 12\,000$ ) с высоким содержанием диаминокарбоновых кислот (аргина, гистидина, лизина).

Гистоны содержат в своем составе 20—30 %, а проламины — 50—80 % таких кислот. Белки этой группы включены в ядра клеток высших животных, составляют белковую часть нуклеопротеидов, играют важную роль в формировании ядерного нуклеопротеидного комплекса (хроматина). Примерами протаминов являются сальмин (из молоки семги) и скубрин (из молоки скумбрии).

**Протеиноиды (склеропротеины)**. Это фибриллярные белки опорных тканей: костей, хрящей, связок, шерсти, копыт, волос, щелка и др. Они не растворимы в воде, солевых растворах, разбавленных растворах кислот и щелочей. Ферменты пищеварительных ферментов не способны их гидролизовать.

Протеиноиды богаты глицином, пролином и цистином. Характерная их особенность — высокое содержание серы. Представителями белков этого типа являются кератины, фиброин, коллаген и эластин ( $M = 2\,000\,000$  и более).

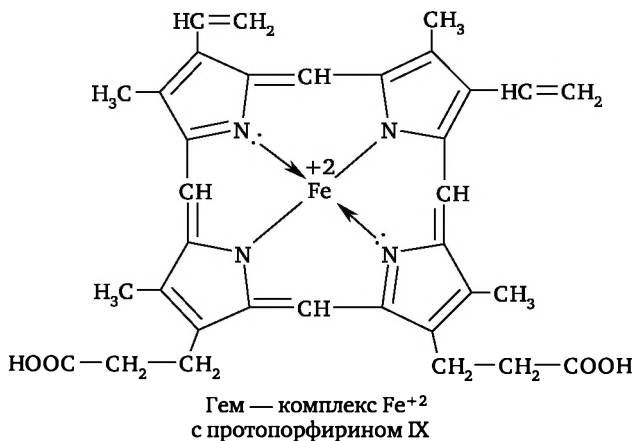
**Кератины** образуются в эпидермисе кожи, входят в состав волос, шерсти, рогов и копыт. К кератином относится нейрокератин нервной ткани.

**Фиброин** ( $M = 30\,000$ ) — нерастворимый белок шерсти, вырабатывается железами гусениц, пауков, бабочек-шелкопрядов.

К **протеидам**, или сложным белкам, относятся хромопротеиды, фосфопротеиды, липопротеиды, гликопротеиды и нуклеотиды.

**Хромопротеиды** содержат окрашенные простетические группы в виде металлокомплексов на основе **порфирина** (гемоглобин, миоглобин, геминовые ферменты — каталаза, пероксидаза, цитохромоксидаза), производных **изоаллоксазина** (флавиновые ферменты), **каротина** (родопсин).

В состав молекулы гемоглобина ( $M = 60\,000 \div 70\,000$ ) входит белок **глобин**, состоящий из четырех полипептидных цепей, и простетическая группа **гем** — хелатный комплекс железа(II) и макроцикла протопорфирина. Последний, в свою очередь, является производным порфирина (порфина), заключающего в себе четыре пиррольных кольца и три типа заместителей ( $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ ).

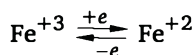


В зависимости от порядка расположения указанных выше заместителей протопорфин может образовывать 15 изомеров. Самой распространенной формой является **протопорфин IX**, включенный в состав гемоглобина, миоглобина и большинства цитохромов.

Гемоглобин образует нестойкий комплекс с молекулярным кислородом — оксигемоглобин, обеспечивающий перенос  $\text{O}_2$  в органы и ткани организма (см. параграф 10.1).

Более стойкий комплекс гемоглобин образует с оксидом углерода(II) — карбоксигемоглобин, обуславливающий ядовитость этого газа.

Образование гемоглобином комплексов с газами не изменяет степень окисления железа(II), в то время как в гемсодержащих оксидоредуктазах — цитохромах, выступающих в качестве переносчиков электронов, железо обратимо изменяет степень окисления:



**Миоглобин** ( $M = 17\,000$ ) состоит из одной молекулы белка и одного гема, обеспечивает кислородом мышечные ткани. Сродство кислорода к миоглобину выше, чем к гемоглобину.

К **хромопротоидам** относится группа оксидоредуктаз дыхательной цепи — цитохромов. Они содержат железопорфириновые простетические группы, т. е. гемовое железо, и осуществляют перенос электронов в окислительно-восстановительных реакциях.

Белковый комплекс **цитохромоксидазы** состоит из семи субъединиц и пронизывает внутреннюю мембрану митохондрий. Молекулярная масса этого хромопротенида составляет порядка 140 000 (с учетом входящих в его состав липидов — примерно 200 000).

К гемовым белковым комплексам относятся фермент **каталаза** ( $M = 225\ 000$ ), содержащий четыре гема, и **пероксидаза**, включающая один гем.

В окислительно-восстановительных процессах во всех формах жизни участвуют и **негемовые железопротеиды**, осуществляющие перенос электронов в дыхательной цепи митохондрий, при фотосинтезе и в процессе фиксации азота. В этих соединениях железо связано не с гемом, а с серой сульфгидрильных групп ( $-SH$ ) аминокислотного фрагмента цистеина. Известны структуры железопротеидов, содержащие от одного до восьми атомов железа, например  $2\ Fe-S$  — ферредоксин,  $8\ Fe-S$  — ферредоксин.

Резервной формой железа в организме является железосодержащий хромопротеид **ферритин**.

В гемолимфе беспозвоночных животных обнаруживается хромопротеид, содержащий медь — **гемоцианин** ( $M = 350\ 000 \div 6\ 500\ 000$ ).

Важнейший хромопротеид растений, обеспечивающий фотосинтез, образуется на основе хлорофилла и представляет собой комплекс протопорфирина с магнием(II).

К хромопротоидам, не содержащим в своем составе металлов, относятся **флавопротеиды** (ФАД, ФМН). В качестве простетической группы они включают рибофлавин. Флавопротеиды участвуют в окислительно-восстановительных реакциях. В окисленном состоянии они окрашены в красный, коричневый или зеленый цвет.

В группу хромопротеидов входят и **ретинилиденпротеиды**, содержащие в качестве хромофорных группировок ретинали. Они локализованы в сетчатке глаза и отличаются высокой фоточувствительностью.

Большую группу сложных белков составляют **липопротеиды** ( $M = 200\ 000 \div 1\ 300\ 000$ ), включающие липиды (жиры, холестерол, фосфатиды и др.). Они растворимы в воде, содержатся в протоплазме клеток, в плазме крови, лимфе, яичном желтке, молоке. Липопротеиды осуществляют транспорт многих биологически активных веществ, выступают в качестве основы биологических мембран.

Липопротеиды входят в состав протоплазмы и пластид растительной клетки, в частности хлоропластов.

В **гликопротеидах** роль простетической группы играет углевод, ковалентно связанный с функциональными группами аспаргина, треонина, серина, оксипролина или оксилизина. Гликопротеиды содержатся в животных организмах, растениях и микроорганизмах.

Природные гликопротеиды подразделяют на **истинные** (нейтральные) и **мукопротеиды** (кислые). В состав первых входят аминоуглеводы. Например, запасный белок семян фасоли — вицилин — содержит маннозу и *N*-ацетилглюкозамин.



В структуре мукопротеидов наряду с аминок углеводами обнаруживаются остатки гексуроновых кислот и сульфатов, которые придают субстрату кислый характер.

Среди гликопротеидов находятся ферменты (пероксидаза, глюкозооксидаза), антибиотики (пропердин), гормоны (эритропоэтин), протекторы слизистой оболочки от расщепления ферментами (муцины).

К гликопротеидам относятся некоторые ядовитые белки растений (лицин, абрин), биологическое действие которых обусловлено тем, что они необратимо инактивируют рибосомы.

**Нуклеопротеиды** представляют собой комплексы простых белков с нуклеиновыми кислотами. Белковый компонент обычно состоит из гистонов или протаминов — щелочных белков. Хотя в качестве белковой части могут выступать и альбумины, имеющие кислый характер.

Нуклеотиды являются компонентами ядра, рибосом, митохондрий, включаются в структуру вирусов.

**Молекулярная масса** белковых молекул колеблется в широком интервале — от 6000 (инулин) и 17 400 (альбумин молока) до 40 000 000 (вирус табачной мозаики), а изоэлектрическая точка (рI) варьируется от 4,6 (фибриноген) до 10,6 (цитохром с). Гемоглобин человека характеризуется рI 6,4—7,2. Напомним, что **изоэлектрическое состояние аминокислот, полипептидов и белков предполагает уравнивание положительных и отрицательных зарядов фрагментов, связанных с одной макромолекулой (молекулой)**. Значение рН, при котором белок находится в изоэлектрическом состоянии, называется **изоэлектрической точкой**.

Большинство белков набухают и растворяются в воде, образуя коллоидные растворы (гидрофильные коллоиды, или растворы ВМС). Из водных растворов белки осаждаются нейтральными солями ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и др.) и органическими растворителями ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ). Суть высаливания заключается в разрушении сольватной оболочки, поддерживающей макромолекулу полимера «на плаву». Особенно легко белок осаждается в характерной для него изоэлектрической точке, что используется для разделения белковых смесей дробным осаждением.

Белки, как и аминокислоты, являются **амфотерными соединениями** — в кислой среде они проявляют себя как основания, а в щелочной — как кислоты. С амфотерными свойствами связано буферное действие белков, т. е. способность поддерживать в тканях и клетках организма постоянное рН. В частности, в крови белковый буфер функционирует наряду с гемоглобиновой, карбонатной и фосфатной буферными системами.

Под действием концентрированных кислот и щелочей, ионов тяжелых металлов, повышенных температур и других факторов про-

исходит разрушение тонкой структуры (четвертичной, третичной и вторичной) белков и изменение их нативных свойств. Такое явление называется **денатурацией**. Приготовление яичницы — наглядный пример денатурации белка.

Вследствие нарушения структурной организации в процессе денатурации происходит развертывание полипептидных цепей белка, увеличивается вязкость раствора, облегчается процесс высаливания, становятся более доступными в стерическом плане и поэтому более реакционноспособными функциональные группы ( $-\text{SH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{S}-\text{S}-$  и др.). Если процесс денатурации произошел неглубоко, то возможно самопроизвольное восстановление нативных свойств белка — **реденатурация**.

#### 8.4. Биосинтез и обмен аминокислот в растительных организмах

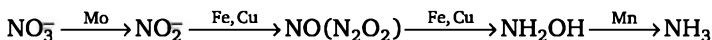
Для большинства видов растений источником азота являются **аммиак** и **нитраты** почвы. Лишь некоторые из растений способны усваивать непосредственно **молекулярный азот** и превращать его в азотистые вещества. Источником аммиака в почве являются остатки и выделения животных и растений, разлагающихся в почве под влиянием микроорганизмов.

Способность растений синтезировать аминокислоты за счет неорганических азотистых соединений отличает их от животных. При этом у зеленых растений, способных к фотосинтезу, в качестве источника углерода служит углекислый газ. Такой способностью обладают также микроорганизмы — **хемосинтетики**. Лишенные хлорофилла низшие растения — грибы и бактерии — для синтеза белка кроме аммиака или нитратов используют готовый источник углеродистого питания — **сахар** (углеводы).

Необходимо отметить, что свободный аммиак ядовит для растений и поэтому он не накапливается, а сразу превращается в аминокислоты, амиды и белки либо окисляется нитрофицирующими бактериями в нитриты и далее — в нитраты.

Нитраты же могут накапливаться в растениях, в некоторых случаях — в значительных количествах (например, в гречихе и в табаке).

Вместе с тем достоверно известно, что на пути к аминокислотам нитраты напрямую не взаимодействуют с углеводами, а восстанавливаются первоначально до нитритов и затем до аммиака. Выделены ферменты, ответственные за эти процессы. Схему восстановления нитратов можно представить следующим образом:



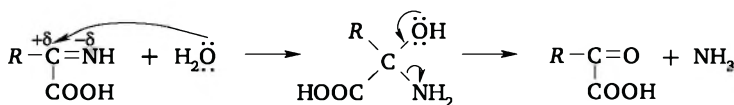
Процесс разложения в почве белков, аминокислот, мочевины и других азотистых соединений называется **аммонификацией**, а вызывающие его бактерии — **аммонификаторами**. Эти микроорганизмы имеют активные ферменты, в частности ферменты протеолитического типа, гидролизующие белки до аминокислот. Свободные аминокислоты подвергаются далее дезаминированию с образованием аммиака.

Существует несколько типов дезаминирования аминокислот:

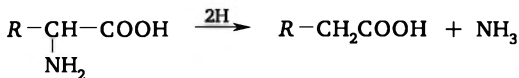
**Окислительное дезаминирование:**



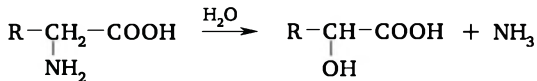
Восстановительные формы никотинамиддинуклеотида (НАД·Н<sub>2</sub>) или флавиномононуклеотида (ФМН·Н<sub>2</sub>) переносят молекулы водорода на кислород с образованием в конечном счете воды, а иминокислоты подвергается гидролизу:



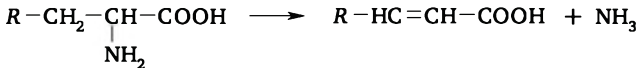
### Восстановительное дезаминирование:



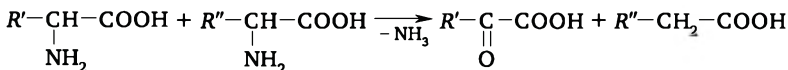
**Гидролитическое дезаминирование:**



### Внутримолекулярное дезаминирование:

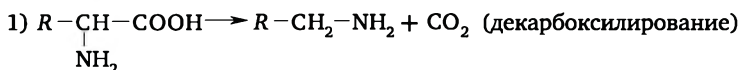


В анаэробных условиях при гниении белков возможно сочетание окисления одной молекулы аминокислоты с восстановлением другой молекулы, сопровождающиеся дезаминированием:

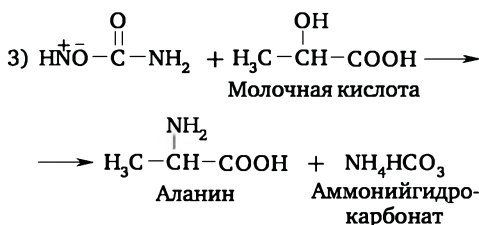
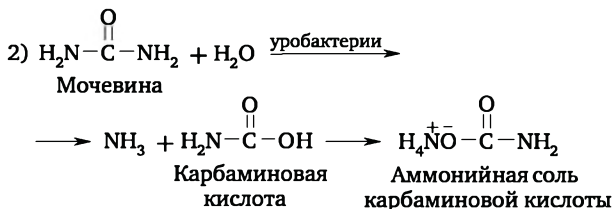


Образовавшаяся кетокислота способна вступать в реакцию с исходной аминокислотой.

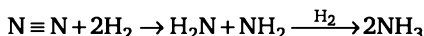
В анаэробных условиях осуществляются также следующие реакции:



Амин далее разлагается бактериями с образованием аммиака, воды и  $\text{CO}_2$ .



Некоторые почвенные анаэробные (*Clostridium*) и аэробные (*Azobacter*) микроорганизмы способны ассимилировать молекулярный азот воздуха, превращая его в аминокислоты и белки. Предполагается, что азот восстанавливается в аммиак через гидразин:



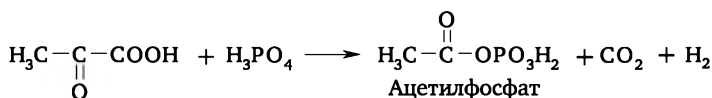
Связывать молекулярный азот могут также живущие в почве и водоемах, в частности на рисовых полях, цианобактерии, фотосинтезирующие бактерии и лишайники.

Особое место в растительном мире занимают бобовые культуры: соя, люцерна, клевер, люпин и др. Они не нуждаются в азотистых удобрениях, и сами обогащают почву азотом. Этой способностью они обязаны бактериям, живущим в клубеньках корней.

В корневых системах имеется вещество **легоглобин** ( $M = 31\,400$ ), которое по аналогии с гемоглобином крови связывает молекулярный кислород, образуя **оксилегоглобин**. Легоглобин содержит железо, а также стимулирующие процесс азотфиксации молибден и кобальт.

Сам легоглобин не принимает непосредственного участия в процессе ассимиляции  $N_2$ , но он транспортирует кислород, необходимый для дыхания бактерий и синтеза АТФ.

Для фиксации азота необходимы источник энергии и приток электронов. Источники энергии у разных организмов различны. Например, у анаэробов, подобных *Clostridium pasteurianum*, таким источником является процесс брожения, сопровождающийся реакцией

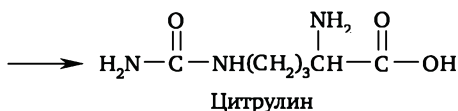
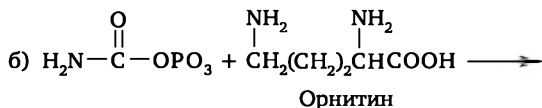
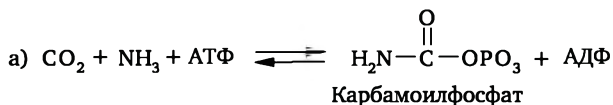


Образующийся ацетилфосфат передает заключенную в нем энергию АДФ с образованием АТФ.

Из различных бактерий выделен ферментный комплекс **нитрогеназа**, ответственный за восстановление азота до аммиака.

Интересно отметить, что нитрогеназа способна катализировать восстановление не только азота, но и других субстратов: ацетилена ( $HC \equiv CH$ ) до этилена ( $H_2C=CH_2$ ), ионов водорода до  $H_2$ , оксида азота(I) ( $N_2O$ ) до  $H_2O$  и  $N_2$ .

В корневых клубеньках некоторых кустарников и древесных растений (мох, ольха) развиваются симбиотические микроорганизмы — **актиномицеты**, ответственные за ассимиляцию молекулярного азота. В отличие от бобовых растений в актиномицетах в качестве первичного продукта фиксации азота обнаруживается **цитруллин**, сочетающий в себе фрагменты мочевины и аминокислоты. Цитруллин образуется путем карбамоилирования аминокислоты орнитина с помощью карбамоилфосфата:



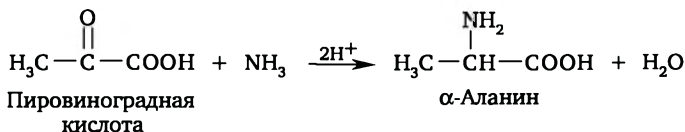
Характерно, что азотистое питание множества растений связано с образованием на корнях своеобразных грибных образований — **микориз**.

Насекомоядные растения и **растения-паразиты** (например, заразиха) потребляют в качестве азотистого питания белки и продукты их гидролитического расщепления. При этом используются ферменты протеиназы, оптимум действия находится при pH 3—3,2.

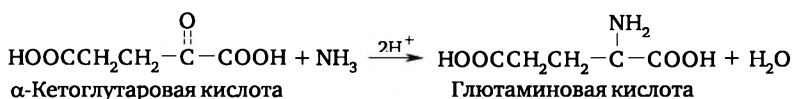
Ассимилировать органические азотистые соединения могут некоторые грибы, бактерии и высшие растения, хотя зачастую органический азот предварительно подвергается минерализации, т. е. превращению в аммиак.

Каковы же основные **пути биосинтеза аминокислот**? Как ни парадоксально, но в основе этих процессов лежат реакции, обратные тем, которые мы наблюдали в процессах аммонификации и, в целом, минерализации органических азотсодержащих субстратов.

Аммиак, поглощенный растением в виде аммонийных солей или образовавшийся в нем в результате восстановления нитратов, взаимодействует с кетокислотами. Например, важнейший продукт метаболизма углеводов — **пировиноградная кислота** в реакции с аммиаком превращается в **аланин**:



Особенно легко аммиак реагирует с  **$\alpha$ -кетоглутаровой кислотой**:



Фермент **глютаматдегидрогеназа** (1.4.1.2), катализирующий образование глютаминовой кислоты, выделен из клеток животных, растений, дрожжей и бактерий.

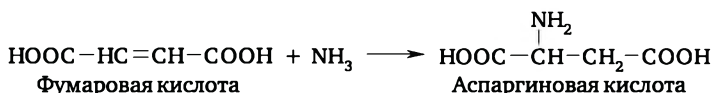
При декарбоксилировании, переаминировании и других превращениях глютаминовая кислота может дать начало  $\gamma$ -аминомасляной кислоте, аспаргину и другим аминокислотам.

Важную роль в ассимиляции аммиака у растений играет **глютаминсинтетаза**, катализирующая синтез на основе глютаминовой кислоты и аммиака **глютамина**:



Как показано на представленной схеме, образовавшийся глютамин реагирует под влиянием фермента глютаматсинтетазы (1.4.1.13) с  $\alpha$ -кетоглутаратом, образуя две молекулы глютаминовой кислоты. В зеленых частях растений и у фотосинтезирующих зеленых водорослей источником электронов является ферредоксин, а у бактерий и в корнях растений — НАД·Н<sub>2</sub> и НАДФ·Н<sub>2</sub>.

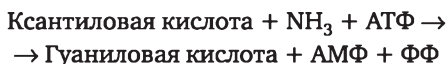
**Аспаргиновая** кислота может образовываться путем присоединения аммиака к фумаровой кислоте:



У некоторых бактерий аммиак может быть активирован в результате реакции:



Микроорганизм *Aerobacter* содержит фермент, который аминировать фрагмент ксантина (2,6-диоксипурина) в ксантиновой кислоте путем замены группы ОН в положении 2 на аминогруппу с образованием фрагмента гуанина. При этом ксантиловая кислота превращается в гуаниловую (см. подп. 8.6.1):

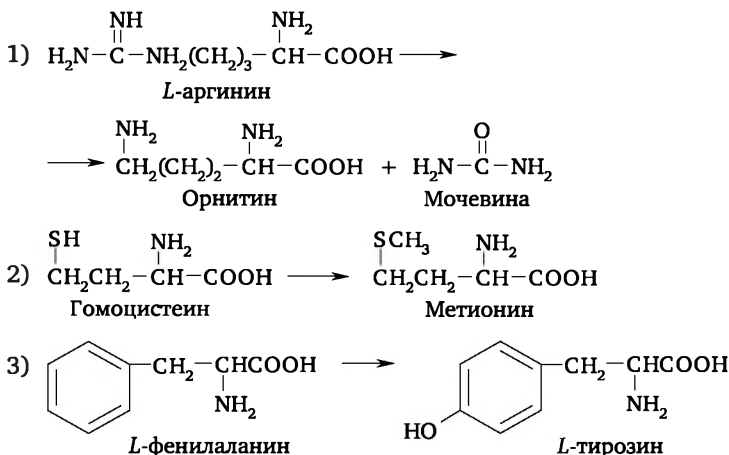


а микроорганизм *Clostridium propionium* аминировать акрил-КоА с образованием  $\beta$ -аланил-КоА ( $\text{H}_2\text{NCH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{S-KoA}$ ).

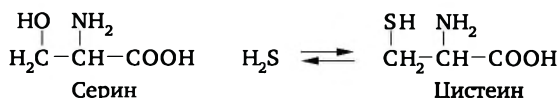
Аминокислоты могут передавать свои аминогруппы кетокислотам путем ферментативного переаминирования (**трансаминирования**). Например:



В растительных и животных организмах реализуется широкий набор ферментативных превращений одних аминокислот в другие. Приведем некоторые реакции, которые являются источником так называемого **вторичного образования** аминокислот:



Источником серы для синтеза серусодержащих аминокислот являются сульфаты, передающие фрагмент —  $\text{SO}_3\text{H}$  аденозину, который, в свою очередь, ведет к образованию ряда промежуточных соединений на пути восстановления шестивалентной серы и внедрения в органические кислоты группы  $\text{SH}$ . В дрожжах содержится фермент, который осуществляет включение сульфгидрильной группы в аминокислоту серин.



Некоторые микроорганизмы не могут создавать белки только из неорганических источников азота и требуют для своего развития целый ряд аминокислот, усваиваемых в неизменном виде. К числу подобных микроорганизмов, нуждающихся в «незаменимых» для них аминокислотах, относятся, например, золотистый **стафилококк**, вызывающий образование гнойных ран, и **молочнокислые бактерии**. Но если для стафилококка требуется две аминокислоты (триптофан и цистин), то для молочнокислых бактерий *Lactobacillus casei* обязательно наличие 16 аминокислот.

Механизм синтеза белка на основе аминокислот в растительных клетках во многом сходен с механизмом этого процесса в животных организмах и мы рассмотрим его в параграфе 9.6. Отметим только, что в растительных клетках синтез происходит в субклеточных структурах — **рибосомах**, которые обнаружены в цитоплазме, митохондриях и хлоропластах. Рибосомы способны обратимо диссоциировать на две субчастицы — большую и малую. Эти субчастицы идентифицируются по коэффициентам седиментации в ультрацентрифуге, равным соответственно 80 и 70 единицам Сведберга (80S и 70S).



У высших растений в цитоплазме содержатся 80S рибосомы, а в хлоропластах — 70S. Рибосомы цитоплазмы животных клеток имеют коэффициент седиментации 80S, а у бактерий доминируют 70S.

### **8.5. Особенности метаболизма белков и аминокислот в животных организмах**

Гидролитическое расщепление **эндогенных** (локализованных внутри) и **экзогенных** (поступающих извне) белков осуществляется протеолитическими ферментами — **пептидгидролазами** (подкласс КФ 3.4). Выделяющаяся при этом энергия переходит в тепло.

**Эндопептидазы** расщепляют пептидные цепи, действуя на центральные участки, а **экзопептидазы** отщепляют концевые аминокислоты.

На первом этапе катаболизма белки проходят сложный путь протеолитических превращений в желудочно-кишечном тракте.

В желудке животных и человека белки набухают, разрыхляются и денатурируют под действием желудочного сока, содержащего 0,8 % соляной кислоты и других активных компонентов. Затем в действие вступают эндогенные протеолитические ферменты — **пепсины** и **химозин**.

Пепсины ( $M = 34\,500 \div 37\,600$ ) проявляют оптимальную активность при pH 1,0—3,0. При pH > 6,0 пепсины инактивируются.

pH-оптимум химозина ( $M = 34\,000$ ) лежит в области 3,0—5,0.

Белки и пептиды попадают из желудка в тонкий кишечник, где под действием протеиназ подвергаются более глубокому гидролизу. Протеиназы секретируются клетками слизистой оболочки и поджелудочной железы.

Сок поджелудочной железы содержит комплекс проферментов (трипсиногена и химотрипсиногена) — предшественников ферментов **трипсина** и **химотрипсина**, а также **карбоксипептидазу** и **натрийгидрокарбонат**, создающий слабощелочную среду.

Молекула трипсина включает 229 аминокислотных остатков с шестью дисульфидными связями. Этот фермент гидролизует сложноэфирные и амидные связи и расщепляет 1/3 всех пептидных связей.

Химотрипсин по ряду физико-химических свойств подобен трипсину, гидролизует преимущественно пептидные связи ароматических аминокислот (тирозина, фенилаланина, триптофана) и метионина.

В поджелудочной железе образуются и другие эндопептидазы, в частности, **эластиназа**, **коллагеназа**, **карбоксипептидазы** и **аминопептидазы**. Карбоксипептидазы катализируют отщепление концевых аминокислот со свободной карбоксильной группой

(С-концевых аминокислот), а аминопептидазы гидролизуют пептидные связи N-концевых аминокислот.

Не гидролизированные в тонком кишечнике белки поступают в толстый кишечник, где они подвергаются **гниению**.

В этом процессе ферменты бактерий осуществляют расщепление белков и аминокислот, сопровождающееся образованием **газов** (метана,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ) и **токсических** веществ (фенола, крезола, скатола, индола и др.). Однако следует отметить, что доля аминокислот, подвергающихся воздействию ферментов микрофлоры в толстом кишечнике, невелика.

Непереварившиеся в желудочно-кишечном тракте белки выводятся из организма с калом, а образовавшиеся аминокислоты всасываются в кровь и через воротную вену попадают, прежде всего, в печень.

Механизм всасывания аминокислот и низкомолекулярных пептидов связан с их транслокализацией через мембраны клеток с помощью специфических переносчиков.

Превращения белков внутри клеток и в межклеточном пространстве органов и тканей осуществляются, как уже отмечалось, комплексом пептидгидролаз (**катепсинами**), локализованным в цитоплазме либо на мембранах.

Некоторые ферменты (в частности, коллагеназа, эластаиназа) могут секретизироваться из клеток в межклеточное пространство, где локализованы их субстраты.

В живых организмах создается так называемый **аминокислотный пул**, величина которого у взрослых организмов в состоянии азотистого равновесия сохраняет постоянство. Эта величина соответствует разнице между количеством поступающих в организм аминокислот, с одной стороны, и расходом их в катаболических и анаболических процессах — с другой.

Белки в организме постоянно обновляются. Так, белки печени обновляются наполовину за 8—12 суток, белки плазмы крови — за 18—45 суток, а для фермента инсулина период полураспада составляет всего 6—9 мин. У крупного рогатого скота за **сутки** синтезируется 120—200 г белка, у цыплят-бройлеров — 4—8 г, а у лактирующей коровы за тот же период с молоком выделяется 600—1200 г новых белков.

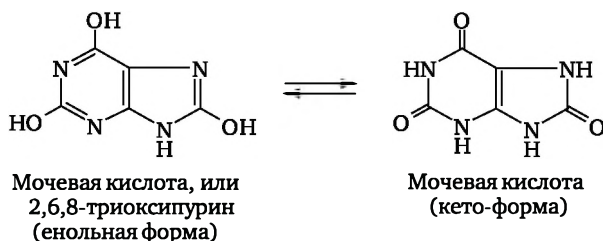
Взаимопревращения аминокислот в процессе обмена в животных организмах основаны на реакциях **трансаминирования**, **дезаминирования** (в том числе — **окислительного дезаминирования**), **декарбоксилирования** и др. Механизмы этих процессов сходны с механизмами рассмотренных выше реакций, реализующихся в растительных клетках.

Особенностью белкового и аминокислотного обмена у животных, отличающей их от растительных организмов, является образо-

вание **побочных продуктов**, так называемых конечных продуктов азотистого обмена, вредных для организма и требующих их вывода. Так, в процессе дезаминирования аминокислот и аминов образуется **аммиак**, токсичный для организма, особенно для мозга. В норме уровень концентрации аммиака в крови не должен превышать 1—2 мг/л, а концентрация 50 мг/л является летальной.

У большинства животных аммиак нейтрализуется путем превращения в нетоксичные соединения. Например, при взаимодействии аммиака с глутаминовой кислоты под влиянием глутаминсинтетазы образуется **глутамин**.

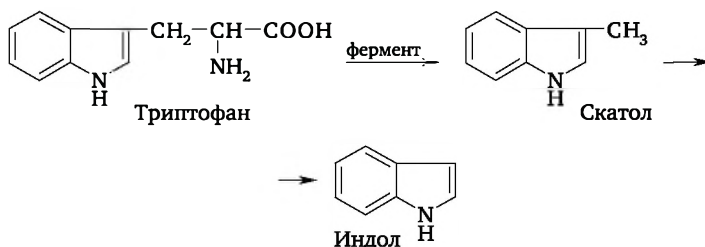
В печени аммиак вовлекается в реакции синтеза мочевины. У разных видов животных аминный азот может выводиться из организма в форме свободного аммиака, мочевины и мочевой кислоты.



Мочевая кислота образуется у птиц, ограничено потребляющих воду. При нарушении азотистого обмена у человека возможно отложение солей мочевой кислоты (**уратов**) в суставах и в виде почечных камней.

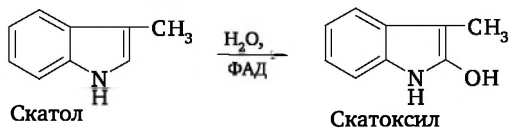
Известны и другие формы выводимого из организма азота: **креатинин**, **индикан**, **аминокислоты** и др. У некоторых морских рыб продуктом выводимого азота является триметиламинооксид  $(\text{CH}_3)_3\text{N} \rightarrow \text{O}$ .

Из аминокислоты триптофана в результате действия бактерий в качестве побочных продуктов образуются **скатол** и **индол**:

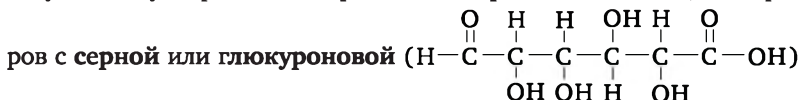


Фенол, крезол, индол и скатол — ядовитые вещества с неприятным запахом — всасываются в кровь и при избытке оказывают вредное воздействие на организм. Вот почему справедливой представляется рекомендация тибетской медицины: содержи прямую кишку в чистоте.

В печени и кишечной стенке ядовитые вещества обезвреживаются за счет «защитного синтеза». На первом этапе они чаще всего ферментативно окисляются



Вводимые гидроксильные группы позволяют взять окисленные молекулы на «буксир» за счет образования парных соединений, т. е. эфи-



кислотой. Эти соединения не ядовиты и выделяются с мочой.

В животных организмах от аминокислот берут начало белки, в том числе ферменты, гормоны, антитела, пиримидиновые и пуриновые основания, необходимые для синтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот, пиррольные производные (порфирины), множество биологически активных веществ пептидной природы.

## 8.6. Биосинтез белка. Нуклеиновые кислоты

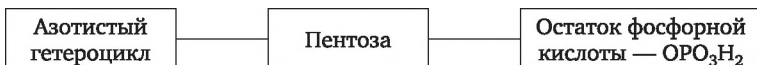
Проблема синтеза белка в живой клетке — одна из наиболее значимых и интригующих проблем современной науки. В свою очередь, она тесно связана с проблемой синтеза и функционирования нуклеиновых кислот. Парадокс соотношения этих проблем заключается в том, что **нуклеиновые кислоты ответственны за синтез белка**, в то же время **ферменты, имеющие белковую природу, обеспечивают синтез нуклеиновых кислот**. И снова возникает вопрос: что первично? Курица от яйца или яйцо от курицы?

Современная научная концепция биосинтеза белков тесно связана с такими проблемами, как наследственность, естественный отбор, выведение новых форм растений и животных организмов на основании современных достижений **генной инженерии**.

Синтез белка осуществляется в субклеточных структурах — **рибосомах**, которые локализуются в цитоплазме, митохондриях и хлоропластах. Процесс образования белковых молекул осуществляется по принципу **матричного синтеза** с помощью нуклеиновых кислот.

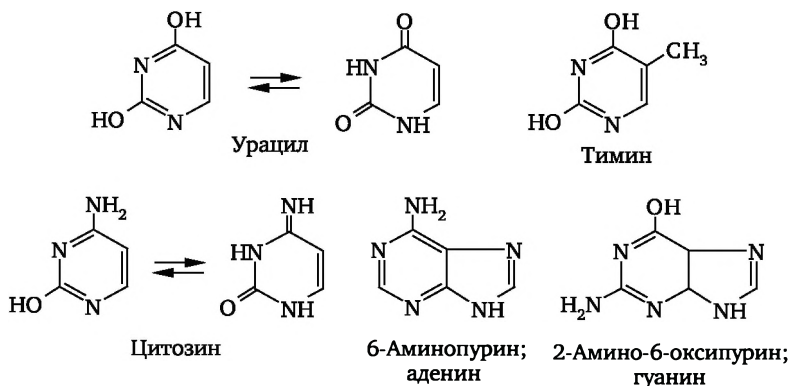
### 8.6.1. Нуклеотиды и полимеры на их основе — нуклеиновые кислоты

Нуклеиновые кислоты (**полинуклеотиды**) представляют собой продукты конденсации **моонуклеотидов**, состоящих из трех компонентов:

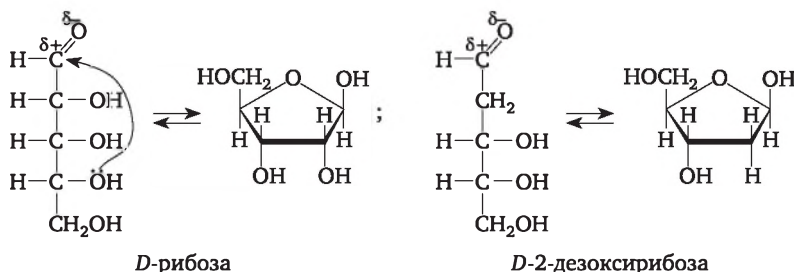


Соединение, включающее два первых компонента — гетероцикл и пентозу — называется **нуклеозидом**. Таким образом, нуклеотид — это фосфорный эфир нуклеозида. К нуклеозидному фосфату могут присоединяться еще один или два остатка фосфорной кислоты, образуя соответственно **нуклеозидди-** и **нуклеозидтрифосфаты**. Как видно на примере кофермента НАД (см. подп. 4.2.2), два нуклеотида могут соединяться по остаткам фосфорной кислоты, образуя **динуклеотид**.

В состав нуклеотидов и нуклеиновых кислот включены три пиримидиновых основания (**урацил**, **тимин**, **цитозин**) и два пуриновых основания (**аденин** и **гуанин**).



Из пентоз в состав **рибонуклеиновой кислоты (РНК)** включена **рибоза**, а в состав **дезоксирибонуклеиновой кислоты** — **дезоксирибоза**:



Звено  $\text{HO}-\text{P}=\text{O}$  делает нуклеотиды кислотами средней силы.

Названия нуклеотидов связаны с названиями включенных в них оснований: **адениловая** (в сокращенной форме обозначается буквой А),

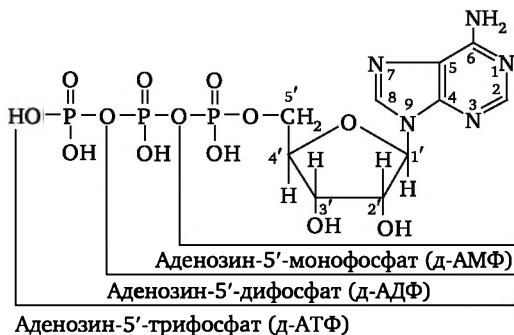
гуаниловая (Г), цитидиловая (Ц) и тому подобные кислоты. Используются также и латинские обозначения — соответственно А, Г, С (табл. 8.4).

Таблица 8.4

Название нуклеотидов и мононуклеотидов

Азотистые основания	Нуклеозиды (основание + углевод)	Мононуклеотиды (нуклеозид + $\text{H}_3\text{PO}_4$ )	Сокращенное обозначение
Пуриновые: аденин гуанин	Аденозин Гуанозин	Аденозинмонофосфат Гуанозинмонофосфат	АМФ ГМФ
Пиримидиновые: урацил цитозин тимин	Уридин Цитидин Тимидин	Уридинмонофосфат Цитидинмонофосфат Тимидинмонофосфат	УМФ ЦМФ ТМФ

Если в состав нуклеотида входит дезоксирибоза, то к названию в ряде случаев добавляется приставка **дезокси**, например, дезоксиаденозин-5'-трифосфат (д-АТФ).



Соединение мононуклеотидов посредством эфирных связей фосфорной кислоты приводит к образованию **нуклеиновых кислот**, принцип построения которой отражает рис. 8.1.

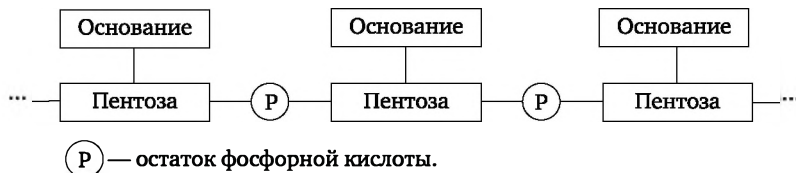
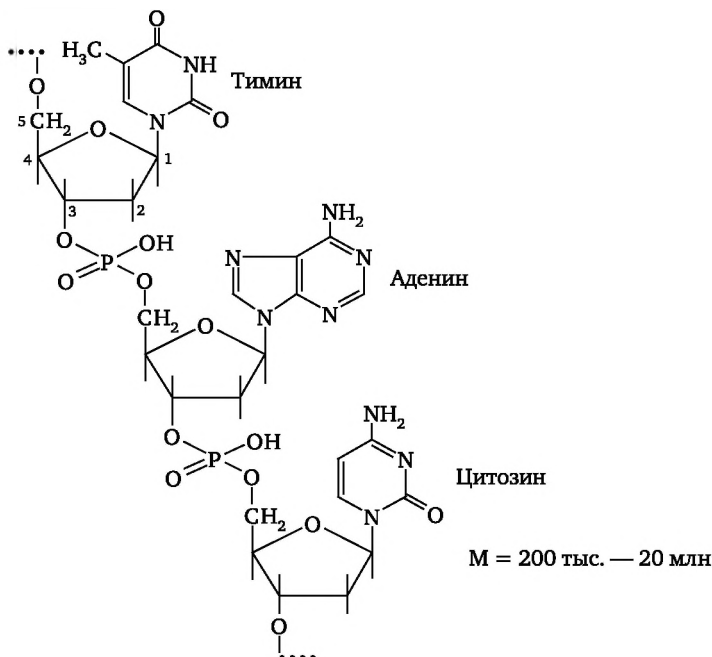


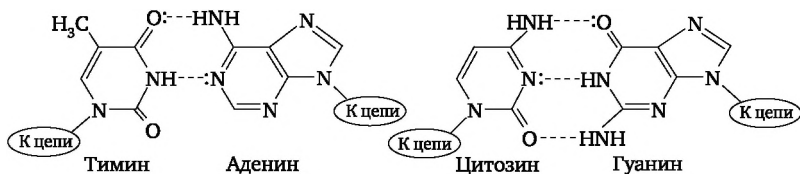
Рис. 8.1. Структура одноцепочечной нуклеиновой кислоты

Один из фрагментов нуклеиновой кислоты представляется следующим образом:



Различают первичную, вторичную и третичную структуры нуклеиновых кислот.

**Первичная структура ДНК** — это цепь нуклеотидов, связанных молекулами фосфорной кислоты в положениях 3 и 5 двух соседних фрагментов пентоз. **Вторичная структура ДНК** представляет собой  $\alpha$ -спираль, состоящую из двух полинуклеотидных цепей, закрученных одна вокруг другой и вокруг общей оси (Д. Уотсон, Ф. Крик, 1953). Эти цепи связаны водородными связями между специфическими (комплементарными) парами молекул азотистых оснований:



Двухцепочечная спираль ДНК, как правило, сворачивается в кольцевую форму (суперспираль), формируя, таким образом, тре-

тичную структуру. Суперспиральная конфигурация ДНК характерна для хромосом высших организмов.

Присутствующие в нуклеиновых кислотах ионизированные фосфатные группы образуют комплексы с основными белками (протаминами, гистонами), полиаминами, металлами подгруппы ПА ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ). Как полидентантные лиганды нуклеиновые кислоты образуют комплексы с ионами металлов.

В отличие от ДНК РНК содержит вместо дезоксирибозы рибозу, а вместо тимина — урацил и состоит из одной спиралевидной полинуклеотидной цепи.

**Биосинтез нуклеиновых кислот** представляет собой сложный процесс, состоящий из нескольких стадий.

1. Биосинтез пуриновых и пиримидиновых нуклеозидмонофосфатов.
2. Превращение рибонуклеозидфосфатов в соответствующие дезоксирибонуклеозидмонофосфаты (для синтеза ДНК).
3. Образование на основе монофосфатов нуклеозидтрифосфатов.
4. Полимеризация нуклеозидтрифосфатов в полирибонуклеотиды — ДНК и РНК.

Животные способны синтезировать пуриновые и пиримидиновые нуклеозиды и нуклеотиды как из готовых гетероциклов, так и из нуклеотидных предшественников ( $NH_3$ ,  $CO_2$  и аминокислот).

Рассмотрим в качестве примера схему биосинтеза **оротовой кислоты** (рис. 8.2) и на ее основе — пиримидиновых нуклеозидтрифосфатов: **уридинтрифосфата** и **цитидинтрифосфата** (рис. 8.3).

Нуклеиновые кислоты подвергаются постоянному ферментативному распаду в пищеварительном тракте и в различных клетках.

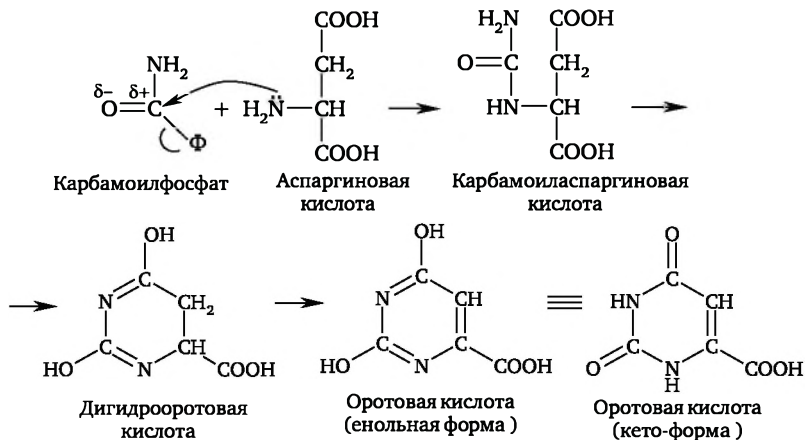


Рис. 8.2. Биосинтез оротовой кислоты



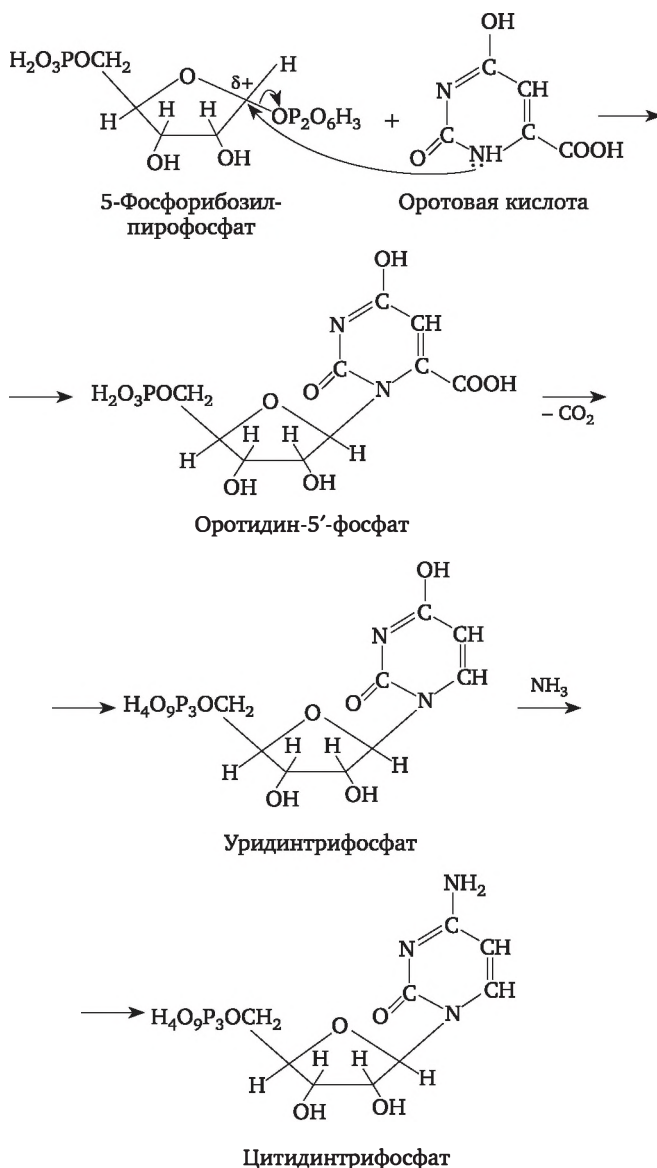


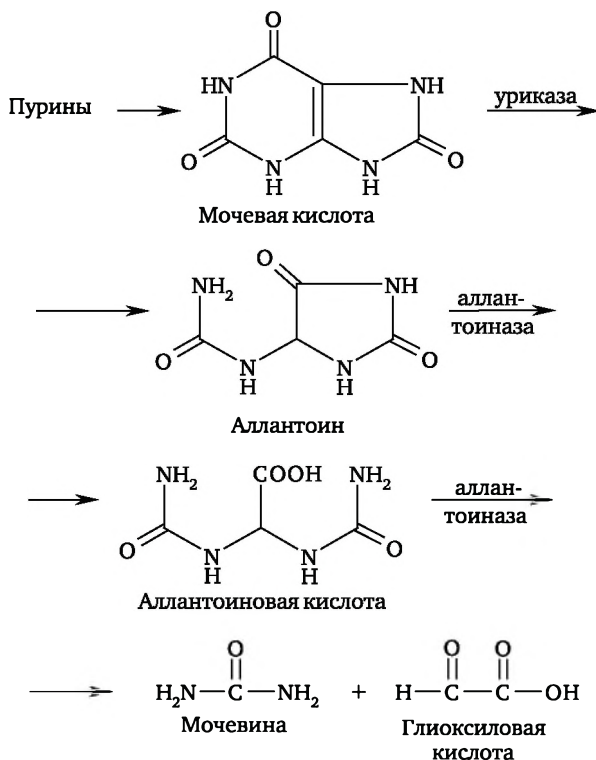
Рис. 8.3. Биосинтез уридинтрифосфата и цитидинтрифосфата

Входящие в состав пищи нуклеиновые кислоты расщепляются в двенадцатиперстной кишке под действием ферментов нуклеаз (РНКаза и ДНКаза) поджелудочной железой. Олигонуклеотиды гидро-

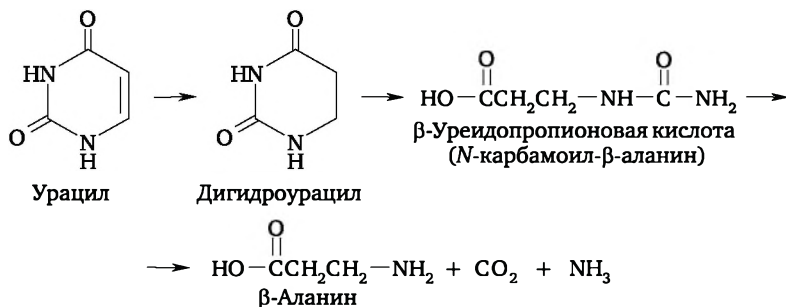
лизуются до мононуклеотидов под действием **диэстераз**. Продукты ферментативного гидролиза нуклеиновых кислот всасываются в кровь и могут быть либо использованы для синтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот, либо подвергнуты дальнейшему распаду.

Конечные продукты катаболизма пуринов подобны продуктам распада белков. У человека и птиц — это мочевая кислота, у костистых рыб — аллантоиновая кислота, у амфибий и большинства рыб — глиоксиловая кислота ( $\text{HOOC}-\text{CHO}$ ) и мочевины. В ряде случаев образуется аммиак.

Мочевая кислота выводится из человеческого организма с мочой. У большинства же млекопитающих мочевая кислота окисляется в печени особым ферментом — **уриказой** — в аллантоин. В других организмах под влиянием аллантоиназы аллантоин может превращаться в аллантоиновую кислоту и далее — в мочевины и глиоксиловую кислоту.



Метаболический распад пиримидинов в животных тканях и у некоторых микробов протекает через уреидокислоты, которые гидролизуются с образованием  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$  и  $\alpha$ -аминокислот.



Аммиак используется для синтеза мочевины, которая выделяется с мочой.

### 8.6.2. Механизм биосинтеза белка

Основная роль в осуществлении и регуляции биосинтеза белков, специфических для каждого организма и обладающих широким спектром биологических свойств, принадлежит **нуклеиновым кислотам**.

Информация о структуре почти всех синтезируемых в организме белков закодирована в нуклеотидной последовательности дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) ядра клетки. ДНК передает эту информацию в центры белкового синтеза на **рибосомах**.

В соответствии с **матричной теорией** биосинтеза белка можно выделить следующие его стадии: **транскрипция, рекогниция и трансляция**.

Транскрипция (от лат. *transcriptio* — переписывание) заключается в том, что на матрице каждой из двух цепей раскручивающейся двойной спирали ДНК в ядре осуществляется синтез аналога рибонуклеиновой кислоты, именуемого **матричной (ядерной) РНК**. Процесс транскрипции контролирует фермент РНК-полимераза, обеспечивающая комплементарность цепей ДНК и м-РНК. То есть в плане нуклеотидной последовательности последняя является точной копией ДНК.

Отметим, что в ядре содержится около 99,9 % всей массы ДНК, где она связана с гистонами (белками основного характера) и организована в **хромосомы**. Клетки эукариотических организмов включают различное количество хромосом (пчела — 16; кукуруза — 20; крыса — 42; человек — 46, курица — 78). Бактерии прокариоты обладают одной хромосомой.

В каждой хромосоме животных имеется, как правило, одна большая молекула ДНК. Хромосома млекопитающих содержит около 15 % ДНК, 10 % РНК и 75 % белка.

ДНК включает в себя огромное количество генов. **Ген** — это участок ДНК, кодирующий первичную структуру определенного типа

белка, ответственного за то или иное качество организма. Средний размер гена — около 1000 пар мононуклеотидов. У плодовой мушки ДНК включает не менее 100 тыс. генов, а ДНК сельскохозяйственных животных — 3—6 млн.

Синтезированные на стадии транскрипции молекулы РНК под воздействием специфических эндонуклеаз созревают, в результате чего образуются функционально активные матричные (информационные) РНК (м-РНК). Последние отделяются от ядра и переходят в протоплазму, где они локализуются на рибосомах и осуществляют поликонденсацию аминокислот, т. е. трансляцию (от лат. *translatio* — перенесение) кода ДНК на структуру белковых молекул.

Однако трансляции предшествует стадия рекогниции (от лат. *recognition* — узнавание, опознание), суть которой состоит в подготовке к введению в процесс поликонденсации молекул аминокислот в строго определенной последовательности. Подготовка молекул аминокислот связана с их активацией под влиянием ферментов аминоацилсинтетаз (аминокислота-т-РНК-лигаз), в состав которых включены транспортные рибонуклеиновые кислоты. Синтезируются они по тому же механизму, что и м-РНК, но отличаются относительно небольшой молекулярной массой. Для каждой аминокислоты имеется своя т-РНК.

В процессе активации аминокислота сочетается с АТФ, и образовавшийся аминоациладенилат взаимодействует с т-РНК. Продукт этого взаимодействия — аминоацил-т-РНК — и является передаточным звеном в наращивании макромолекулы белка на рибосомах.

Рибосомы представляют собой рибонуклеотидные комплексы, состоящие из двух субъединиц. В живой природе, как уже отмечалось, существует два типа рибосом, характеризующихся коэффициентами седиментации 70S и 80S.

Рибосомы цитоплазмы эукариот характеризуются коэффициентом седиментации 80S ( $M = 4,5 \cdot 10^6$ ), которые, в свою очередь, состоят из малой (40S) и большой (60S) субъединиц. Массовое соотношение РНК — белок в них составляет 1:1. Рибосомы клеток животных включают также  $Mg^{2+}$  (2 %) и полиамины (кадаверин, путресцин и спермин) (0,4—2 %).

В эукариотических клетках рибосомы находятся в свободном состоянии либо связаны с мембраной эндоплазматического ретикулаума. В последнем случае рибосомы обеспечивают синтез мембранных и секреторных белков.

Прокариотическим организмам (бактериям, в том числе цианобактериям) свойственны 70S рибосомы ( $M = 3 \cdot 10^6$ ), которые, в свою очередь, состоят из малой (30S) и большой (50S) субъединиц. По химическому составу они являются рибонуклеопротеидами, состоящими из РНК и белка в соотношении 2:1.

Каков же механизм поликонденсации аминокислот на рибосомах?

Включение каждой из 20 аминокислот в полипептидную цепь на стадии трансляции обеспечивает так называемый **кодон** — триплет, состоящий из трех нуклеотидов в цепи м-РНК. Известны кодоны для всех 20 аминокислот.

Из четырех нуклеотидов, отличающихся азотистым основанием, может образовываться  $4^3 = 64$  триплета. Из них 61 кодон несет смысловую нагрузку, т. е. они кодируют соответствующие аминокислоты, а три кодона (УАА, УАГ, УГА) принято считать бессмысленными, хотя в биосинтезе белка они играют определенную, пока не до конца выясненную роль. Каждую аминокислоту, за исключением метионина и триптофана, способны включать в цепь от двух до шести кодонов. Например, кодон ГГУ (гуанин-гуанин-урацил) ответственен за аминокислоту глицин. А лейцин может кодироваться четырьмя кодонами (УУА, УУГ, ЦУУ, ЦУА).

Включение аминокислоты триптофана контролирует триплет уридилового, гуанилового и гуанилового мононуклеотидов (УТГ, или UGG), а аминокислоты валина — кодон, заключающий в себе гуаниловый, уридиновый и цитидиловый (ГУЦ).

Порядок сочетания кодонов в ДНК и соответствующей ей (комплементарной) и-РНК определяет порядок связывания аминокислот в процессе синтеза белка на рибосомах, что, по сути, и является реализацией **генетического кода**.

Некоторые аминокислотные остатки модифицируются уже после включения их в полипептидную цепь. В частности, такого типа превращения приводят к появлению в макромолекулах белка звеньев оксипролина, оксилизина, фосфосерина, некоторых ацетил- и метилпроизводных аминокислот.

Стадию трансляции матричной (информационной) РНК в полипептидную последовательность аминокислот можно также разделить на три стадии: **инициацию**; **элонгацию** (удлинение) и **терминацию** (завершение роста цепочки полимера).

Инициацию трансляции обеспечивает иницирующий кодон. Для большинства белков таким кодоном является кодон аминокислоты метионина АУГ (AUG), гораздо реже — ГУГ (GUG). В этом процессе функционирует специфическая — иницирующая т-РНК.

На стадии элонгации полипептидная цепь растет в результате присоединения аминокислотных остатков по карбоксильному концу цепи. т-РНК, связанные с той или иной аминокислотой, подходят к рибосоме и, продвигаясь вдоль цепи локализованной на ней матричной РНК, как бы считывают заложенную в ней информацию.

Трансляция осуществляется до тех пор, пока не будут достигнуты терминирующие кодоны: УАА, УАГ или УГА. Эти кодоны, обозначен-

ные выше как бессмысленные, не имеют своих аминоксил-т-РНК и не способны продолжать трансляцию.

Терминирующие кодоны узнаются специальными белковыми структурами, именуемыми **факторами терминации**, или **факторами освобождения**.

Биосинтез белка частично осуществляется и в **митохондриях**. Причем функционирующие в них рибосомы, и-РНК, т-РНК и ферменты, активирующие аминокислоты, отличаются от тех, которые контролируют синтез белка вне митохондрий.

Опубликованы научные данные (Science News, 1983, Т. 124, No. 7. С. 101) о том, что несколько десятков генов, ответственных за передачу наследственности потомкам, имеются только в митохондриях матери — сперма не передает зародышу митохондрий. Этот факт позволяет сделать вывод о **первородстве женщины**, положившей начало человеческому роду.

Очевидно, что исключительно сложный по уровню организации процесс синтеза белка контролируется неким непознанным биологическим фактором — сложнейшей информационной системой, имеющей, по-видимому, **биополеву** (квантовую) природу.

## **8.7. Пути видоизменения ДНК: мутации, лизогения, трансдукция, трансформация. Рекомбинация ДНК**

**Мутацией** называют изменение в структуре дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), влияющее на результаты ее функционирования и передающееся последующим поколениям. На молекулярном уровне мутацию можно представить как изменение нуклеотидной последовательности или включение в эту последовательность новых звеньев, длина которых может варьироваться от длины остатка отдельной аминокислоты до набора генов.

Мутации реализуются в природе как спонтанные процессы, связанные с ошибками при копировании генов. Скорость спонтанных мутаций невелика и составляет в среднем одну ошибку на миллион дубликаций гена. Однако в ряде случаев замена уже одной аминокислоты на другую может привести к серьезным последствиям. Так, заболевание человека — **серповидно-клеточная анемия** — обусловлена мутацией, суть которой заключается в замене в белке гемоглобина остатка аминокислоты глутамина (Glu) на остаток валина (Val).

Некоторые промежуточные продукты метаболизма клетки (пероксиды и образующиеся на их основе радикалы, супероксид-ион ( $\dot{O}-O^-$ ), азотистая кислота, формальдегид и др.) могут индуцировать химические мутации. Причиной химических мутаций может быть также повышенное содержание в организме тяжелых металлов и **ксенобиотиков** — чужеродных соединений, попадающих в орга-

низм извне (многоядерных ароматических соединений, галогенсодержащих углеводов типа диоксина, алкилирующих агентов и др.).

Мощным источником мутаций является **радиация**. При достаточной высокой дозе ультрафиолетового излучения, особенно жесткого, значительная часть клеток может погибнуть, а выжившие клетки подвергаются глубоким трансформациям, которые могут оказаться необратимыми, несмотря на то, что в клетке имеются ферментативные механизмы репарации (восстановления) ДНК.

Клетки различного типа, в том числе и клетки микроорганизмов, подвержены воздействию **вирусов**.

Вирусы — это мельчайшие живые образования, не имеющие клеточного строения. Они проходят через фильтры, задерживающие бактерии, и не растут на средах, используемых для культивирования бактерий. Их можно увидеть только в электронный микроскоп.

Вирусы содержат один тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) и белок. Основная функция последнего сводится к образованию защитной оболочки (капсиды). Сам по себе вирус не способен к самовоспроизводству, но, проникая в какую-либо клетку, он размножается путем захвата и сборки компонентов (нуклеиновых кислот и белков), продуцируемых клеткой-хозяином.

Вирусы вызывают целый ряд заболеваний человека (грипп, корь, полиомиелит, желтую лихорадку и др.). Вирусное заражение может крайне неблагоприятно влиять на биотехнологические процессы с участием бактерий, в частности в сыроделии и производстве антибиотиков.

Каков же механизм **инфицирующего** действия вирусов, имеющего прямое отношение к трансформациям ДНК клеток?

Вирусы, поражающие бактерии, называются **бактериофагами**, или просто **фагами**. «Жизненный цикл» вирусов можно видеть на примере фага  $\lambda$ , инфицирующего бактерию *E. coli*. Фаг прикрепляется к клеточной стенке и затем вводит свою ДНК в клетку. Далее возможны два альтернативных пути развития процесса.

Первый путь, называемый **лизогенией**, связан с внедрением ДНК фага, именуемого в этих условиях **профагом**, в хромосому бактерии. При этом клетка живет и воспроизводится, копируя одновременно профаг и создавая таким образом лизогенные клетки. Подобные фаги, взаимодействующие с клеткой, называют **умеренными**.

Другой вариант вирусного заражения неизбежно приводит к гибели клетки-хозяина и называется **литическим циклом**. При таком сценарии ДНК фага по сути дела контролирует все клеточные процессы. Она заставляет рибосомы синтезировать ферменты, разрушающие ДНК клетки-хозяина, и содействует многократному копированию фаговой ДНК. Затем синтезируются белки, формирующие частицы фага. Самосборка множества новых фагов стимулирует



синтез фермента лизоцима, который разрушает клеточные стенки бактерий, что ведет к ее полному разрушению (**лизису**) и высвобождению множества фагов.

Новые фаговые частицы могут захватывать фрагменты (1—2 %) хромосомы породившей их клетки и переносить их на хромосому другой клетки, осуществляя так называемый **кроссинговер**. Процесс, ведущий к изменению генетических характеристик нового хозяина фага, называется **трансдукцией**.

В мире бактерий возможен перенос генетической информации из одной клетки в другую в виде свободной ДНК или ее фрагмента. Такой процесс называется **трансформацией**. В этом случае осуществляется кроссинговер хромосомы клетки-реципиента с проникающим в клетку фрагментом двухцепочечной ДНК. Так, если к культуре стрептококковых бактерий *Streptococcus viridans*, не способной сбраживать трегалозу, прибавить препарат ДНК, выделенный из клеток *Pneumococcus*, сбраживающих эти сахара, то стрептококк приобретает передающуюся по наследству способность сбраживать трегалозу и рафинозу.

Механизм трансформации позволяет включать в живые бактерии не только структурные элементы хромосом, но и фрагменты **плазмид**, т. е. молекул ДНК, существующих и реплицирующихся независимо от бактериальных хромосом.

Трансформация с помощью плазмид является одним из основных приемов направленного изменения структуры ДНК. Плазмиды могут обеспечивать клетку рядом новых качеств.

Глубокие генетические изменения могут быть достигнуты путем **слияния клеток** различных типов. Первой стадией такого сложного процесса является получение **протопластов** — клеток, лишенных с помощью ферментов-гидролаз наружных стенок и окруженных только плазматическими мембранами. Слияние осуществляется обычно в растворе полиэтиленгликоля (ПЭГ).

Метод слияния может применяться и для получения гибридов как растительных, так и животных клеток.

В конце 1970-х гг. в биохимии был разработан ряд методов создания **рекомбинантных ДНК**, положивших начало **генетической инженерии**, которая позволяет направленно конструировать генетический материал и вводить его в живые клетки, прививая им полезные с точки зрения экспериментатора свойства.

Суть этих методов заключается в том, что ДНК бактериальной клетки-хозяина, например *E. Coli*, модифицируют по механизму трансформации с помощью молекулы **рекомбинантной ДНК**. В свою очередь, рекомбинантную ДНК получают соединением (*in vitro*) фрагментов чужеродной ДНК, содержащих интересующие исследователя гены, с ДНК бактериальной **плазмиды**, называемой **вектором** (рис. 8.4).





Рис. 8.4. Конструирование рекомбинантной ДНК путем соединения чужеродной ДНК с плазмидным вектором

Необходимые фрагменты ДНК получают с помощью **рестрикционных эндонуклеаз**, способных узнавать и расщеплять специфические нуклеотидные последовательности в молекулах ДНК. Известно несколько десятков таких эндонуклеаз и собраны обширные банки полученных с их помощью фрагментов ДНК мыши, крысы, мухи и, конечно, бактерий. Если, например, обработать ДНК кишечной палочки одной из рестриктаз *E. Coli*, то можно получить около 500 отдельных фрагментов, содержащих несколько бактериальных генов.

Комплекс методов, используемых для включения и закрепления нового гена в бактериях, называется **клонированием**. Результатом таких процедур является приготовление колонии генетически идентичных трансформированных клеток, которые содержат интересующий экспериментатора сегмент ДНК.

Манипулирование генами создает перспективы для конструирования бактерий, которые можно выращивать без большого труда и значительных затрат для того, чтобы они синтезировали нужные вещества, такие, как, например, антибиотики, ферменты, гормоны, интерферон и др.

В настоящее время клонированные ДНК уже целенаправленно используются для изменения природы не только бактерий, но и высокоорганизованных организмов.

### Вопросы и задания для самоконтроля

1. Что представляют собой по природе белки? В чем заключается их биологическая роль?
2. В чем суть обмена аминокислот в растительных организмах?
3. Покажите особенности метаболизма белков в животных организмах.

4. Представьте закономерности биосинтеза белка.
5. Охарактеризуйте строение нуклеиновых кислот (ДНК, РНК) и покажите их роль в биосинтезе белка.
6. В чем суть реализации генетического кода организма?
7. Назовите основные пути естественного видоизменения ДНК. Что такое рекомбинация ДНК? В чем суть генной инженерии и каковы перспективы ее развития?

## Глава 9

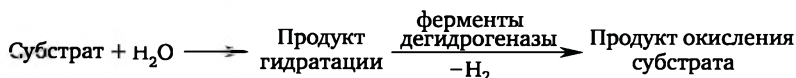
# ОБМЕН ВОДЫ И БИОМЕТАЛЛОВ В ОРГАНИЗМАХ ЖИВОТНЫХ

Организмы животных и растений содержат множество минеральных веществ: воду, неорганические кислоты, соли, соответствующие анионы и катионы. Часть солей находится в организме в растворенном состоянии. Другие же образуют прочные нерастворимые комплексы с белками, например фосфорнокислый кальций в костной ткани; углекислый кальций в раковинах моллюсков; железо обнаруживается в гемах гемоглобина, миоглобина, в цитохромах, в ферменте каталазе; кобальт — в витамине В<sub>12</sub>; магний, медь, марганец, цинк и др. — в ряде ферментов; иод — в гормоне тироксине.

### 9.1. Обмен воды

Содержание воды у млекопитающих и птиц составляет около 65 %, или 2/3 массы живого тела.

Вода обладает высокой теплоемкостью и играет важную роль в терморегуляции организмов. Она служит в организме в качестве растворителя различных веществ и участвует во многих реакциях как реагент. Важнейшая ее функция — участие в реакциях окисления, в которых она выступает как донор кислорода согласно схеме:



Обладая высокой диэлектрической постоянной, вода в значительной степени ослабляет электростатическое взаимодействие между ионами и способствует диссоциации ионных и полярно-ковалентных соединений.

Содержащуюся в организме воду подразделяют на **свободную** и **иммобилизованную**. Свободная вода содержится в плазме крови, лимфе, пищеварительных соках, моче. В межклеточных пространствах воды мало и удерживается она там капиллярными силами. Свободная вода обеспечивает приток к тканям питательных веществ и удаление из них конечных продуктов обмена.

Иммобилизованная вода лишена способности к свободному перемещению. Меньшая ее часть, так называемая **гидратационная** вода, прочно связана с полярными группами белков и других биополимеров. Например, 100 г белков связывают 18—50 г воды. Диполи молекул воды упорядоченно располагаются вокруг полярных групп гидрофильных коллоидов. Гидратационная вода замерзает при температуре ниже 0 °C и характеризуется плотностью более 1,0 г/см<sup>3</sup>.

Другая часть иммобилизованной воды заключена в надмолекулярных клеточных структурах (мембранах, органеллах, фибриллярных агрегатах). Такая вода придает тканям упругость и способствует протеканию в них реакций.

С возрастом количество гидратационной воды в организме уменьшается, коллоиды цитоплазмы постепенно подвергаются синерезису, вследствие чего ткани теряют упругость и сморщиваются.

Животное может жить при полном отсутствии в организме жира и сокращении запасов белков до 50 %, но потеря 15—20 % воды влечет за собой летальный исход.

Наряду с **экзогенной** водой, поступающей извне, организм использует **эндогенную** воду, образующуюся при окислении пищевых продуктов. Так, при окислении 1 г жира образуется 1,07 г воды, углеводов — 0,55 г и белков — 0,41 г воды. Однако такая вода перекрывает потребности организма лишь частично. Например, на каждый килограмм сухого корма животному требуется несколько литров экзогенной воды (лошади — до 3 л, корове — до 6 л).

Некоторые представители низших животных и растений могут длительное время оставаться без воды и даже высыхать, переходя в состояние анабиоза, но при повышении влажности они вновь возвращаются к жизни. К таким формам относятся некоторые бактерии, насекомые, лишайники.

Переход воды из крови в ткани осуществляется за счет гидростатического давления в артериальной части кровеносной системы, создаваемого работой сердца. С другой стороны, вода из тканей поступает в кровь за счет разности онкотического (коллоидно-осмотического) давления — в крови оно выше.

Вода в организме депонируется в межклеточном пространстве соединительной ткани, кожи, печени и других органов. Катионы натрия способствуют гидратации тканей, а катионы калия и кальция, наоборот, удалению воды из тканей.

Потребность организма в воде регулируется нервной и гормональной системами. Нервная система реагирует на чувство жажды, которое появляется уже при первых признаках сгущения крови. Гормоны (вазопрессин нейрогипофиза, альдостерон и др.) контролируют проницаемость клеточных мембран для воды, обеспечивая ее выделение или реадсорбцию.

## 9.2. Обмен биометаллов

Обмен воды тесно связан с обменом электролитов и металлоорганических комплексов. В живой материи обнаруживается 76 химических элементов, причем 16 из них — обязательные компоненты всех классов организмов.

Химические элементы по содержанию в организме условно подразделяют на **макроэлементы** (содержание  $10^{-2}$  масс. % и более) и **микроэлементы** ( $10^{-12}$ — $10^{-3}$  масс. %). Из металлов к первой группе относятся Ca, K, Na, Mg, Fe, а ко второй — Mn, Cu, Zn, Co, Mo, Al.

Необходимые для жизнеобеспечения организма биометаллы и, в частности, минеральные вещества поступают в организм с пищей. При этом важно не только их абсолютное количество, но и соотношение между некоторыми компонентами. Так, оптимальное соотношение между кальцием и фосфором в организме составляет 2:1, а соотношение натрия : калий : кальций — 100:1:1,5.

Минеральные вещества усваиваются в основном в тонком кишечнике. Некоторое количество всасывается в желудке и в толстом кишечнике. Диффузия солей через мембраны требует затрат энергии.

После всасывания минеральные соли поступают в печень и далее — переносятся в различные органы. Их доля в организме 2—3 %, но распределяются они в органах и тканях неравномерно.

Для натрия и калия основным депо служит кожа и мышцы. Печень содержит много железа, меди, кобальта, марганца, молибдена, селена и др.

Катионы кальция и магния откладываются в виде фосфатов, галогенидов и карбонатов в костях. Здесь же откладывается и ряд микроэлементов (фтор, стронций, цезий, алюминий, свинец, олово и др.).

Важнейшая функция минеральных веществ заключается в регуляции кислотно-основного равновесия, в частности в поддержании постоянства pH в крови и тканях. Они поддерживают также на определенном уровне осмотическое давление крови и лимфы, существенно влияют на состояние структуры тканей. Свободные ионы определяют конфигурацию белков, а вместе с ней и биологическую активность последних. Ионы влияют также на функцию нервной системы, двигательных и секреторных клеток.

Среди биометаллов есть элементы, образующие преимущественно ионные (Na, K, Mg, Ca) или ковалентно-полярные связи (Mo). Другие же металлы: Fe(II), Fe(III), Co(II), Cu(II), Zn(II) — проявляют себя как сильные комплексообразователи, образующие прочные координационные соединения. Однако в биохимических процессах участвуют и менее устойчивые комплексы, образованные Mn(II), Ca(II), Mg(II). В виде комплексов с макроциклическими лигандами,

в частности, белковой природы, в метаболических процессах также участвуют ионы  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ .

Значительное место в процессах метаболизма занимают комплексы металлов с неорганическими лигандами — нейтральными молекулами ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ) и анионами ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{I}^-$  и др.). Однако большую часть биолигандов составляют **органические молекулы**, как низкомолекулярные, так и макромолекулы, в частности белковые молекулы **ферментов**.

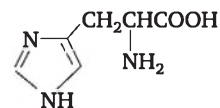
Жизненно важными являются комплексы металлов с азотистыми макроциклическими лигандами, из которых наибольшее значение имеют **порфирины** и **коррины**, построенные на основе четырех конденсированных пиррольных колец.

Порфирилат железа(II) входит в качестве простетической группы в состав хромопротеида **гемоглобина**, выполняющего роль переносчика кислорода (см. п. 8.3, подп. 10.1.1). Гемоглобин составляет 90 % плотного остатка **эритроцитов** — красных кровяных телец, массовая доля которых в крови составляет 39—49 %.

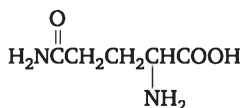
Магнийпорфириновый комплекс составляет основу **хлорофилла**, играющего важную роль в процессе **фотосинтеза** (см. подп. 6.2.8).

Аналогичный по строению корриновый комплекс кобальта(III) входит в состав цианкобаламина — **витамина  $\text{B}_{12}$**  (см. подп. 4.2.6).

Структура металлокомплекса, в частности геометрия полости вокруг центрального атома, определяет его **субстратную стереоселективность**, т. е. форму, размеры и природу субстрата, способного координироваться с катионом металла и подвергаться каталитическому превращению. Так, в ферменте карбоксипептидазе в тетраэдрической координационной сфере  $\text{Zn}^{2+}$  два места заняты атомами азота имидазольных остатков аминокислоты гистидина, третье положение принадлежит атому кислорода аминокислоты глутамина, а в четвертом — расположена молекула воды.

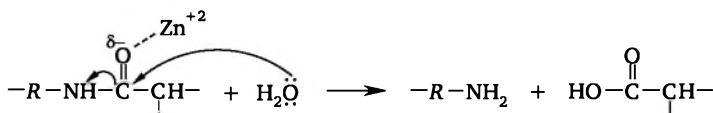


Гистидин

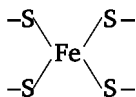


Глутамин

Процессу каталитического гидролиза пептидной связи предшествует координация центрального атома  $\text{Zn}^{2+}$ , как кислоты Льюиса, с карбонильным атомом кислорода, место которому уступает молекула воды:



Ферменты — переносчики электронов, включающие «негемовое» железо — **ферредоксины** — содержат железо, связанное с четырьмя атомами серы цистеиновых фрагментов белка (цистеин — серосодержащая аминокислота  $\text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$ ):

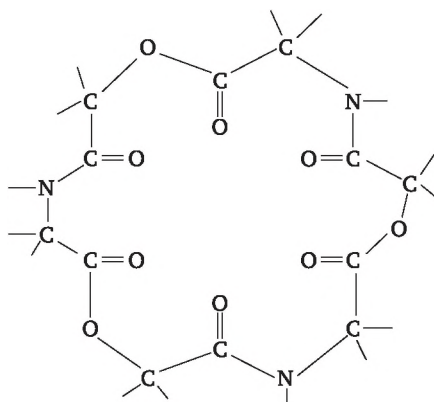


Белковая макромолекула фермента **оксидазы аскорбиновой кислоты** включает в свой состав восемь атомов меди, а фермент **нитрогеназа**, катализирующая восстановление  $\text{N}_2$  в аммиак, содержит атомы Fe, Mg и Mo.

Белки типа трансферрина образуют хелатный комплекс с Fe(III) и обеспечивают его перенос через биомембраны.

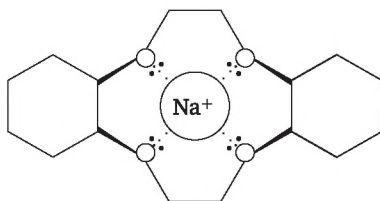
Как показано в гл. 3, большинство ферментов состоит из белковой макромолекулы или ассоциата нескольких таких молекул (апофермента) и небелковой части (кофермента). В металлоферментах катион металла обычно входит в кофермент. По типу катализируемых реакций различают несколько классов ферментов, важное место среди которых занимают **гидролазы** (катализируют реакции гидролиза) и **оксидо-редуктазы** (катализируют окислительно-восстановительные реакции). Реакции гидролиза катализируют металлоферменты, содержащие ионы Ca(II), Mg(II), Zn(II) и Mn(II), а окислительно-восстановительные реакции — Fe(II) (в цитохромах), Cu(II), Mn(II), Mo(VI).

Большой интерес представляют **природные ионофоры** (энниатины, нактины, валиномицин), осуществляющие перенос катионов щелочных металлов и металлов подгруппы IIА через клеточные мембраны. Обрамление молекулярной полости **энниатина** можно представить в следующем виде:

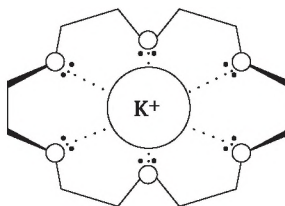


Ионофоры обычно проявляют высокую селективность по отношению к катионам металла. Так, **валиномицин** может проводить в 10 тыс. раз больше катионов калия, чем натрия.

Механизм действия молекул **природных ионофоров** моделируют краун-эфиры, нашедшие применение в химической технологии для извлечения и разделения редких металлов, в приборостроении — для создания чувствительных датчиков, а также в медицине, в частности в качестве антидотов при отравлении соединениями некоторых металлов. Краун-эфиры представляют собой макроциклические лиганды из класса **простых эфиров**, способные удерживать в своей полости катион металла за счет взаимодействия с его вакантными орбиталями (электромагнитным полем) неподеленных пар электронов гетероатомов (O, N, S):



Комплекс катиона натрия  
с краун-эфиром дициклогексил-  
12-краун-4



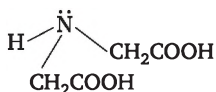
Комплекс катиона калия  
с краун-эфиром 18-краун-6

Особенностью краун-эфиров является высокая **селективность** к катиону металла, обусловленная строго фиксированным размером полости. В частности, краун-эфиры образуют прочные координационные соединения с катионами щелочных металлов. При этом, варьируя размер полости за счет изменения размера цикла и природы связанных с ним заместителей, можно связывать катионы избирательно. Например, дициклогексил-12-краун-4 образует прочные комплексы с катионом натрия, радиус которого лучше всего соответствует размеру полости эфира, в то время как устойчивость комплексов данного лиганда с калием значительно ниже.

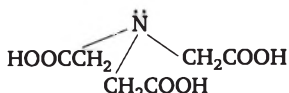
Замена атомов кислорода в краун-эфире на серу увеличивает размер полости, что позволяет этим лигандам образовывать прочные координационные соединения с катионами металлов подгруппы IIA. **Тиокраун-эфиры** — перспективные реагенты для определения содержания щелочноземельных металлов, в частности радиоактивного изотопа  $^{90}\text{Sr}$ , а также для выведения последнего из организма.

В биохимической практике, медицине и в химическом анализе для получения координационных (комплексных) соединений широко применяются полидентатные комплексоны ряда аминокислот:

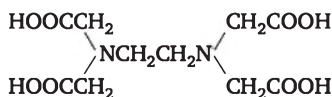




Иминодиуксусная  
кислота



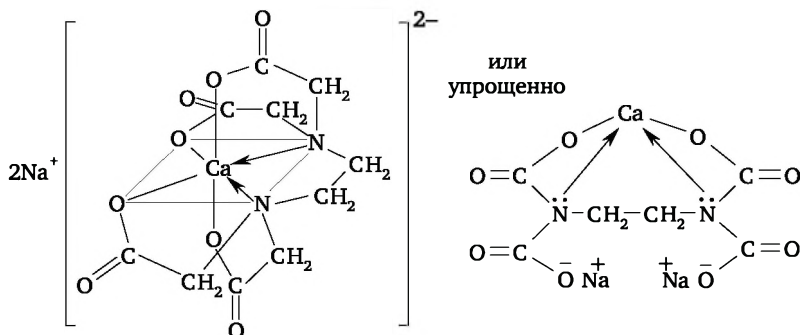
Нитрило-  
триуксусная  
кислота



Этилендиаминтетрауксусная  
кислота (ЭДТА)

Чаще всего находит применение **динатриевая соль ЭДТА** (трилон Б, комплексон III). С его помощью определяют содержание кальция и магния в водной вытяжке из почвы, примеси магния в калийных удобрениях и общую жесткость воды (молярную концентрацию эквивалентов Ca и Mg, ммоль/л).

Хотя ион  $\text{Ca}^{2+}$  является слабым комплексообразователем, его хелатный комплекс с ЭДТА довольно устойчив ( $K_y \approx 10^{11}$ ).



Подобные комплексы железа, полученные на основе трилона Б и других полидентатных лигандов, используются для борьбы с **хлорозом** — заболеванием многолетних растений (плодовых деревьев, винограда, кустарников), обусловленным нехваткой в известковых почвах водорастворимых форм Fe(III). Хлороз проявляется в нарушении процессов синтеза хлорофилла в листьях больных растений.

К полидентатным лигандам относятся полимерные молекулы солей **полифосфорных** и **поликремниевых** кислот, **полиэфиров этиленгликоля** ( $\text{H}[\text{OCH}_2\text{CH}_2]_n\text{OH}$ ), низкомолекулярные полифункциональные соединения из класса карбоновых кислот, кислород-, азот- и серосодержащих **гетероциклов**, **полипептидов** и др.

Хорошо известна цветная реакция на полипептиды и белки (биуретовая реакция), основанная на их комплексообразовании в щелочной среде с гидроксидом меди(II).

Многие **лекарственные препараты** и **яды** являются потенциальными лигандами (или их предшественниками), способными координироваться с каталитическими металлоцентрами, изменяя тем самым их активность или стереоспецифичность. Кроме этого, процессы комплексообразования биометаллов с лекарственными препаратами могут способствовать выводу этих металлов из организма. Предполагается, что функцию веществ, выводящих из организма ионы тяжелых металлов, в том числе и радионуклидов (продуктов радиоактивного распада), играют грубая клетчатка, **пектины**, не перевариваемые в организме человека, и окрашенные пигменты красных вин, овощей и фруктов.

В действии различных микроэлементов и лекарственных препаратов может наблюдаться физиологический **синергизм** или **антагонизм**. В первом случае присутствие одного компонента усиливает активность другого. При этом эффект совместного действия ряда факторов больше, чем эффект последовательного действия каждого из них в отдельности. Например, лечение анемии с помощью комплекса микроэлементов и витаминов дает лучший терапевтический эффект, нежели разрозненное применение отдельных компонентов.

Если же один элемент подавляет действие другого, то в данном случае говорят об их функциональном антагонизме. На принципе антагонизма основано действие **антидотов** (противоядий). Антагонистами являются железо и марганец, литий и натрий, бериллий и магний, молибден и цинк, кобальт и магний. Избыток в организме цинка вызывает угнетение активности железосодержащих ферментов. В то же время медь препятствует такому действию цинка.

Передозировка любого из жизненно необходимых микроэлементов приводит к отрицательному воздействию на организм. По этой причине важнейшей задачей при создании новых композиций фармакологических препаратов, пищевых и кормовых добавок является **оптимальный подбор** качественного **состава** и **соотношения** компонентов, а также **биоорганической «упаковки»** микроэлементов, обеспечивающих усвояемость, синергизм действия и в конечном счете, положительный терапевтический эффект.

Хелатные комплексы металлов используются в **химиотерапии**. В частности, комплексы железа(III) с оксином (8-оксихинолином) обладают противогрибковым и антибактериальным действием.

Соединения и комплексы золота Au(I) с серосодержащими лигандами применяются для лечения ревматического артрита. А имеющие *цис*-конфигурацию комплексы платины, например *цис*-дихлордиамминплатина(II), являются противоопухолевыми средствами. Предполагают, что механизм их действия заключается

в том, что в опухолевой клетке они связываются с ДНК и ингибируют ее репликацию.

**Пеницилламин**  $\text{CH}_3-\underset{\text{SH}}{\underset{|}{\text{C}}}(\text{CH}_3)-\underset{\text{NH}_2}{\underset{|}{\text{CH}}}-\text{COOH}$  способствует выведе-

нию меди с мочой у больных, страдающих болезнью Вильсона.

Установлена способность тетрациклинов захватывать ионы металлов ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ). Существует корреляция между антибактериальными свойствами **антибиотиков** и их способностью образовывать стабильные хелатные комплексы с ионами кальция.

Избыточное количество ионов металлов ингибируют действия тетрациклинов.

Соединения железа при передозировке соответствующих препаратов могут вызвать **сидероз**. К такому заболеванию может привести и употребление пива, сваренного в железных чанах.

Проблемой глобального масштаба является **загрязнение окружающей среды** тяжелыми металлами и некоторыми токсичными неметаллами.

Среди экологически опасных веществ отметим соединения **ртути** (промышленные стоки и фунгициды), **кадмия** (производственные электрохимические процессы), **мышьяка** (из инсектицидов, гербицидов и продуктов сгорания угля), **свинца** (тетраэтилсвинец как антидетонатор моторного топлива, технологические процессы). Очень токсичны ионы  $\text{Be}^{2+}$ ,  $\text{Tl}^{+}$  и соединения плутония.

Вредные металлы вытесняют естественные ионы, связываются с биологическими активными центрами, предпочтительно с серо-содержащими лигандами, азотистыми основаниями и фосфатными группами, нарушая метаболические процессы, в частности ингибируя действие металлоферментов.

На абсорбцию, распределение и токсичность ряда металлов и металлоидов в высокой степени влияют процессы их **метиляции**. Так, неорганические соединения ртути, попадая в водоемы со сточными водами, под влиянием микроорганизмов донных отложений подвергаются метилированию с образованием иона  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ . Ион  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  растворяется в липидах, что позволяет ему накапливаться в мозге и вызывать необратимые процессы отравления.

В качестве метилирующего средства может также выступать  $\text{CH}_3\text{Co(III)}$ -корриноид (витамин  $\text{B}_{12}$ ).

**Биометилирование** характерно также для свинца, мышьяка, телура, селена, платины и других элементов.

Большинство способов лечения отравлений металлами предполагает использование хелатирующих агентов с целью образования и быстрого выведения растворимых и малотоксичных комплексов.

Следует отметить ярко выраженную способность растений при-  
способляться к высокому содержанию **токсичных металлов** ( $\text{Cu}$ ,

Cd, Pb, Zn, Sn, Ni и др.) в почве. Первым участком растения, на который действуют тяжелые металлы, является поверхность корней. Один из возможных механизмов развития толерантности растений состоит в способности включенных в состав ферментов (кислых фосфатаз) специфических белков клеточной стенки связывать и, таким образом, инактивировать ионы этих металлов, не пропуская их в клетку.

**Растения-индикаторы**, указывающие на наличие в почве ценных минеральных отложений, содержащих Ni, Ag, Au, U и др., используются в геологоразведке.

Различные области Земли отличаются друг от друга химической средой жизни и миграцией химических элементов, что существенно влияет на минеральный обмен проживающих на данной территории животных. Таких областей, называемых **биогеохимическими провинциями**, на Земле существует 25.

Нарушение обмена веществ у животных, обусловленное природным геохимическим фактором, нередко приводит к эндемическим заболеваниям (от греч. *endemos* — местный). Например, в районах, где почвы и вода бедны йодом, встречается эндемический зоб. А в биогеохимической провинции с пониженным содержанием кобальта и меди распространена эндемическая анемия.

### Вопросы и задания для самоконтроля

1. Какие виды воды существуют в животных организмах? Какова их функциональная роль?
2. Назовите макроэлементы и микроэлементы, содержащиеся в организме. Какую биологическую роль они играют?
3. Опишите структуру гемоглобина и хлорофилла.

## Глава 10

# ХИМИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ И ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ ОРГАНИЗМОВ

### 10.1. Биохимия крови

#### 10.1.1. Состав крови

Кровь — это вязкая жидкая ткань, осуществляющая через кровеносную систему связь всех органов и тканей организма, создавая необходимый режим их существования. Кровь выполняет различные физиологические функции: **транспортную** (доставляет кислород и питательные вещества к тканям, удаляет из тканей углекислый газ и продукты обмена), **регуляторную** (поддерживает постоянным рН и осмотическое давление), **защитную** (ее лейкоциты и антитела нейтрализуют возбудителей болезней). Кровь способна свертываться при повреждении сосудов, защищая организм от кровопотерь. Состав крови свидетельствует о нормальных и патологических процессах, происходящих в организме.

Обмен веществ между кровью и тканями происходит в капиллярной системе, обладающей очень развитой поверхностью контакта.

Кровь состоит из **плазмы** (55—60 %) и взвешенных в ней **форменных элементов**: эритроцитов — красных кровяных телец (39—44 %), лейкоцитов — белых кровяных телец (1 %) и тромбоцитов (0,1 %). Плотность крови — 1,05—1,06 г/см<sup>3</sup>. Плазма, лишенная белка фибриногена (0,4 %), называется **сывороткой** крови.

Форменные элементы при стоянии крови осаждаются. Этот процесс можно ускорить центрифугированием. Самопроизвольное осаждение форменных элементов получило название реакции осаждения эритроцитов (РОЭ), скорость которой измеряется в миллиметрах в час. Для человека и каждого вида животных характерна определенная постоянная величина РОЭ: у лошади — 60, у свиньи — 30, у собаки — 2,5, у человека — 5—6. РОЭ обычно возрастает при заболевании организма.

**Эритроциты** содержат 40 % плотного остатка, на 90 % состоящего из **гемоглобина** (см. п. 8.3 и 9.2). В их составе имеются также белки стромы, фосфолипиды, стериды, гликопротеиды и ряд ферментов: каталаза, карбоангидраза, холинэстераза, ферменты гликолиза.

Карбоангидраза обеспечивает синтез угольной кислоты из  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  в тканевых капиллярах, а в легочных альвеолах — разложение  $\text{H}_2\text{CO}_3$  на исходные продукты. Для поддержания структуры гемоглобина и клетки в целом эритроциты получают энергию за счет гликолиза. В эритроцитах содержатся калий, натрий, кальций, магний, медь, железо, цинк и другие металлы.

При различных заболеваниях нормальный гемоглобин (А) может видоизменяться в результате изменения последовательности расположения аминокислот в полипептидных цепях. При этом продуцируются модификации гемоглобина S, C, D.

**Лейкоциты** образуют небольшой слой над выпавшими в осадок эритроцитами. В отличие от эритроцитов лейкоциты имеют ядро и все другие органеллы, присущие соматическим клеткам. Наличие ядра и рибосом свидетельствуют о том, что в лейкоцитах постоянно синтезируются белки, в том числе и ферменты.

Лейкоциты играют важную роль в защите организма — они обволакивают эластической мембраной чужеродные молекулы, бактерии, попавшие в организм, и переваривают их. Эту способность обеспечивают лейкоцитам высоко активные оксидоредуктазы и гидролазы (**катепсины**). Такое явление называется **фагоцитозом**.

Лейкоциты вырабатывают также специфический фермент, подобный по действию лизоциму. Он разрушает полисахаридные комплексы бактериальных клеток и способствует ускорению фагоцитоза.

**Тромбоциты**, или кровяные пластинки, играют важную роль в образовании кровяного сгустка при свертывании крови. В отличие от эритроцитов и плазмы в них много фосфатидов и кальция, а также непредельных жирных кислот, включенных в состав специфического липопротеида — фактора свертывания крови. На поверхности тромбоцитов сорбируются и другие биологически активные вещества (гистамин, серотонин и др.), способствующие коагуляции крови.

**Плазма крови** содержит в своем составе 2,5—8 % белков, в том числе фибриногена (0,4 %).

Белки плазмы неоднородны по своему составу, физико-химическим и биологическим свойствам. Методом электрофореза на бумаге или агар-агаре их можно разделить на четыре основные фракции: альбумины,  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулины. А всего в сыворотке крови содержится около 80 индивидуальных белков.

В крови различных видов животных 30—55 % от общего количества сывороточных белков составляют **альбулины** ( $M = 65\,000 \div 70\,000$ ,  $pI\ 4,9$ ; период полураспада 3,7 сут.). Они хорошо растворимы в воде, участвуют в регуляции водно-солевого обмена между кровью и тканями, образуют комплексы с металлами,

гормонами, витаминами, токсинами, лекарственными препаратами и другими веществами, обеспечивая их **транспорт** в организме.

**Глобулины** обозначаются буквами  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ - в связи с последовательностью их перемещения вслед за альбуминами при электрофорезе.

Молекулярная масса белков этой группы колеблется в пределах 16 000—200 000,  $pI$  4,7—5, период полураспада 0,6—0,8 сут.  $\alpha$ -Глобулины синтезируются в печени, общее содержание их в сыворотке крови соизмеримо с содержанием альбуминов. Они богаты углеводами, специализируются как белки — носители многих биоактивных веществ (липидов, витаминов, желчных пигментов, различных металлов). Во фракции  $\alpha$ -глобулинов имеются антитела (например, против дизентерии), ферменты и факторы свертывания крови.

$\beta$ -Глобулины по составу неоднородны ( $M = 0,09 \div 1,3$  млн),  $pI$  4,4 период полураспада 0,5—8 сут.). В этой фракции сконцентрировано 70—75 % липидов крови. Глобулины хорошо комплексуются с различными веществами крови. Особое место среди  $\beta$ -глобулинов занимает железосодержащий белок **трансферрин** ( $M = 90\,000$ ) — основной резерв железа в плазме крови.

$\gamma$ -Глобулины содержат белки-антитела, что определяет их роль защитного фактора организма. Белки-антитела образуются в ответ на поступление в организм чужеродных белков (антигенов) и обеспечивают иммунитет к инфекционным заболеваниям.

В  $\gamma$ -глобулинах особое место занимают специфические белки — **пропердин** и **интерферон**, обеспечивающие высокую резистентность организма инфекционным заболеваниям. Интерферон ингибирует размножение вирусов.

В крови содержатся сложные белки-липопротеиды, гликопротеиды, металлопротеиды и ферменты.

Отметим также такой важный компонент животного организма, как **лимфа**. Это прозрачная жидкость, заполняющая лимфатические сосуды, межтканевое и межклеточное пространство. По составу и физико-химическим свойствам она во многом напоминает плазму крови, отличаясь от нее более низким содержанием белков. К белкам лимфы относятся альбумин, глобулины, фибриноген, протромбин.

В лимфе содержатся также мочевины, аминокислоты, креатинин, жиры, азотистые основания, фосфатиды, сахар, ферменты, различные металлы и другие элементы.

### 10.1.2. Некоторые физико-химические свойства крови.

#### Буферная система. Осмотическое давление

Кровь человека и животных характеризуется постоянным значением  $pH$ . У различных видов млекопитающих оно варьируется в пределах 7,2—7,8, у человека  $pH$  составляет около 7,4.



Всасывание продуктов переваривания пищи из кишечника и обмен веществ в тканях сопровождаются появлением в организме кислот и оснований. Большое количество кислот образуется в тканях в результате распада фосфорных эфиров углеводов, нуклеотидов, эфиров серной кислоты. В качестве основных компонентов в организме выступают аммиак, аминокислоты, азотистые гетероциклы, креатин. Однако кислоты и основания, поступающие в кровь в норме, существенно не изменяют pH крови.

Постоянство pH обеспечивается буферными системами, состоящими чаще всего из слабой кислоты и ее соли с сильным основанием либо из слабого основания и его соли с сильной кислотой. В организмах животных и человека функционирует четыре типа буферных систем.

1. **Бикарбонатный буфер.** Значению pH 7,4 соответствует соотношение:

$$\frac{[\text{H}_2\text{CO}_3](\text{кислота})}{[\text{NaHCO}_3](\text{основание})} = \frac{1}{20}.$$

Поступающая в кровь та или иная кислота нейтрализуется натрийгидрокарбонатом, а основные продукты связываются с помощью  $\text{H}_2\text{CO}_3(\text{CO}_2)$ . Снижению концентрации основных компонентов способствуют почки, способные выделять при необходимости основные соли (например,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) в большем, чем обычно, количестве.

2. **Фосфатный буфер.** Значению pH 7,4 соответствует соотношение:

$$\frac{[\text{NaH}_2\text{PO}_4](\text{слабая кислота})}{[\text{Na}_2\text{HPO}_4](\text{слабое основание})} = \frac{1}{4}.$$

3. **Гемоглобиновый буфер** — калиевая соль гемоглобина (основание) в сочетании с собственно гемоглобином (слабой кислотой).

4. **Белковый буфер.** Бифункциональность действия этой системы обусловлена наличием как основных групп ( $-\ddot{\text{N}}\text{H}_2$ ,  $-\text{C} \begin{smallmatrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{NH}_2 \end{smallmatrix}$ ), связывающих кислоты, так и групп, содержащих подвижный (кислотный) протон ( $-\text{COOH}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $\text{CO}-\text{NH}_2$ ), способных нейтрализовать основания.

Известно такое понятие, как резервная щелочность крови, которая измеряется объемной долей (%) оксида углерода(IV), связанного в гидрокарбонаты ( $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{KHCO}_3$ ). Ведь наряду со связанным в крови присутствует в растворенном виде и свободный  $\text{CO}_2$ .

Понижение щелочного резерва крови называют **ацидозом**, что наблюдается при некоторых заболеваниях (кетозе, рахите, сердеч-



ной недостаточности и др.). В противоположном ацидозу состоянии — **алколозе** — в крови повышается содержание гидрокарбонатов. Алколоз развивается при рвоте, сильных отравлениях и при некоторых инфекционных заболеваниях.

Важной характеристикой крови является **осмотическое давление**. Напомним, что **осмос** — это односторонняя самопроизвольная диффузия молекул растворителя через полупроницаемую мембрану из раствора с низкой концентрацией в раствор с высокой концентрацией вещества. Давление, которое нужно приложить к раствору с высокой концентрацией вещества, чтобы предотвратить осмос, называется осмотическим давлением.

Растворы, которые обладают при одних и тех же условиях одинаковым осмотическим давлением, называются **изотоническими**.

Осмотическое давление крови 0,8 МПа. Изотоническими сыворотке крови являются 0,9%-ный (0,15 моль/л) раствор NaCl и 5,4%-ный (0,3 моль/л) раствор глюкозы. Такие растворы, называемые физиологическими, используются для приготовления инъекций в вену лекарственных препаратов.

Если вводить в кровь дистиллированную воду, то ее эритроциты набухают и разрушаются в результате осмотического проникновения в них воды. Такое явление называется **гемолизом** крови. И наоборот, при попадании в кровь солей и органических компонентов эритроциты обезвоживаются и сморщиваются.

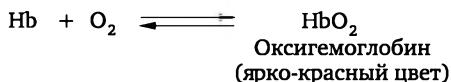
Величина осмотического давления крови зависит от общей молярной концентрации осмотически активных, способных к диссоциации веществ, прежде всего NaCl, NaHCO<sub>3</sub> и фосфатов. Органические составные части плазмы (глюкоза, мочевины и др.) влияют на осмотическое давление сравнительно мало.

Постоянство осмотического давления столь же важно для организма, как и pH крови.

### 10.1.3. Дыхательная функция крови

Наряду с транспортом питательных веществ кровь выполняет в организме человека и животных **дыхательную функцию**, т. е. осуществляет перенос кислорода от легких к тканям и углекислоты (CO<sub>2</sub>) от тканей к легким.

Способностью связывать большое количество кислорода обладает красный пигмент эритроцитов — **гемоглобин (Hb)**.



В легочных капиллярах происходит насыщение крови кислородом, в то время как в тканевых капиллярах, где парциальное давление кислорода резко снижается, происходит обратный процесс.

Венозная кровь, содержащая меньший процент оксигемоглобина, приобретает темно-красную окраску.

Общее количество крови в организме человека составляет около 5 л и содержит она порядка  $2,5 \cdot 10^{13}$  эритроцитов с общей поверхностью порядка 3500 м<sup>2</sup>. Это обеспечивает высокую поглотительную способность крови — парциальное давление кислорода в артериях при полном насыщении равняется в среднем 80 мм рт. ст. (10,6 кПа), а в венах — 40 мм рт. ст. (степень насыщения — 70 %). При парциальном давлении кислорода в артериях ниже 50 мм рт. ст. (состояние гипоксемии) жизнь человека невозможна.

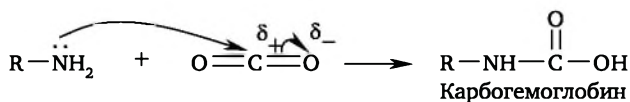
Некоторые вещества, в частности промышленные яды (например, нитробензол, хиноны и др.), обладают способностью окислять гемоглобин в метгемоглобин, превращая  $\text{Fe}^{+2}$  в  $\text{Fe}^{+3}$  и прочно связывая  $\text{Fe}^{+3}$  с группой ОН. Метгемоглобин не обладает способностью переносить кислород, поэтому при отравлении организма наступает гипоксемия, которая может привести к смерти.

Очень прочное соединение, называемое карбоксигемоглобином, образует с гемоглобином оксид углерода(II) (угарный газ CO). Почти весь гемоглобин блокируется уже при содержании во вдыхаемом воздухе десятых долей процента CO.

Гемоглобин обеспечивает также перенос  $\text{CO}_2$ . В межтканевой жидкости его парциальное давление составляет около 60 мм рт. ст. (8,0 кПа), а в венозной крови — 47 мм рт. ст., что обеспечивает диффузию  $\text{CO}_2$  из тканей в венозные сосуды. В эритроцитах крови около 80 %  $\text{CO}_2$  превращаются в гидрокарбонат калия, который в легких разрушается до угольной кислоты и далее — до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

Распад угольной кислоты на  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  осуществляет фермент карбоангидраза, связанный с эритроцитами.

Около 20 %  $\text{CO}_2$  соединяется с гемоглобином карбамидными связями по месту свободных аминогрупп



В легочных капиллярах карбогемоглобин легко отщепляет  $\text{CO}_2$ .

У некоторых низших животных перенос кислорода осуществляется не эритроцитами, а пигментами. Они также являются сложными белками с металлосодержащими простетическими группами. Так, в плазме некоторых червей имеется зеленого цвета **хлорокруорин**, содержащий железо, а у моллюсков обнаружен дыхательный пигмент синего цвета — **гемоцианин**, содержащий медь (0,3 %).

## 10.2. Биохимия мяса

Одним из важнейших продуктов животноводств является мясо: говядина, телятина, свинина, баранина, оленина, крольчатина и др. Особой питательной ценностью обладает мясо птицы. Внутренние органы животных, голова, вымя, хвосты, мясные обрезки называют субпродуктами, составляющими около 20 % получаемого мяса.

Собственно мясо представляет собой скелетную мускулатуру животных (мышечную ткань). Наряду с мышечной тканью выделяют жировую, костную и соединительную ткани. Мясо в тушах сельскохозяйственных животных в зависимости от степени их откормки составляет 50—60 %.

Химический состав мяса зависит от вида животного, его возраста, физиологического состояния и других параметров (табл. 10.1).

Таблица 10.1

Химический состав мяса различных животных

Вид мяса	Вода	Белки	Жиры	Зола	Калорийность, кДж/100 г мяса
Говядина I категории	70,5	18	10,5	1,0	716
Свинина мясная	60,9	16,5	21,5	1,1	1123
Свинина жирная	47,5	14,5	37,3	0,7	1701
Телятина	72,8	19	37,3	0,7	616
Баранина	65,8	16,4	17	0,8	943
Мясо кролика	69,3	21,5	8,0	1,2	679

Основная масса воды в мясе находится в **свободном** состоянии и удерживается мицеллярной структурой белков. **Связанная** вода (около 4 % от веса мяса) входит в состав цитоплазмы клеток (иммобилизованная вода) и в сольватационные оболочки неорганических ионов и органических биомолекул, прежде всего белков. В последнем случае связь осуществляется за счет водородных связей и взаимодействия диполей молекул воды с полярными функциональными группами (COOH, CONH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub> и др.).

Белки собственно тканей мяса состоят из белков миофибрилл (60 масс. %), саркоплазмы (30 %) и соединительнотканной стромы (сарколемы) (10 %). В состав **миофибрилл** входят миоген, глобулин, α-миозин, миоглобин, тропомиозин, актин и актомиозин.

**Саркоплазма** включает в себя миоген, миоглобулин, глобулин «Х», а **соединительнотканная строма** — коллаген, эластин, нейрокератин.

Белки мяса имеют все незаменимые аминокислоты. Отмечается, однако, что коллаген не имеет триптофана и цистина. Поэтому, чем больше в мясе соединительной ткани (коллагена), что характерно,

в частности, для старых животных, тем меньше его питательная ценность.

Наиболее полноценное мясо в тушах крупного рогатого скота находится в спинной части (2 % коллагена), наименее полноценное — в области голяшки (14 % коллагена).

Мясо животных, птицы и рыбы — основной поставщик белка в пищу человека. Частично потребности в белке обеспечивают такие растения, как рис, рожь, кукуруза и др. Однако в белках такого происхождения отсутствует ряд аминокислот: **лизин**, **метионин**, **триптофан** и **треонин**. Пищевая ценность белка определяется содержанием в нем незаменимых аминокислот.

Одним из альтернативных источников пищи является **микробный белок**, получаемый из одноклеточных и многоклеточных микроорганизмов. В этом направлении ведутся исследовательские и опытные работы.

Перспективность такого производства обусловлена тем, что бактерии содержат 64 масс. %, дрожжи — 50 %, микрогрибки *Fusarium graminearum* — 60 % белка и удвоение массы этих организмов происходит всего за несколько часов, в то время как традиционные поставщики белка (скот, поросята, цыплята) требуют для этой цели 1—2 месяца.

В **липидах** мяса преобладают жиры, в том числе на основе олеиновой кислоты (33—47 %). Содержание холестерина достигает 50—70 мг, а стеридов — 3—5 мг на 100 г продукта.

В ткани мяса включены **углеводы**: глюкоза, гликоген (животный крахмал), гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты. Кроме белков, липидов и углеводов в мясе содержится ряд других веществ.

**Азотистые экстрактивные вещества**: аминокислоты и пептиды (2 %), карнитин, креатин, мочевины, карнозин, АТФ, АДФ, АМФ и др. При гниении мяса из орнитина образуется путресцин, из лизина — кадаверин, трупные яды.

**Безазотистые экстрактивные вещества**: молочная, гликолевая, янтарная и другие органические кислоты.

**Витамины**: А, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>12</sub>, РР, С, фолиевая кислота.

**Минеральные вещества** (1—1,5 %): катионы (K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>), анионы (Cl<sup>-</sup>, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>).

Ионы играют важную роль в поддержании pH среды и осмотического давления, влияют на активность ферментов, обеспечивают нормальную работу мышечной ткани, принимают участие в передаче нервных импульсов.

Концентрация катионов Na<sup>+</sup> в межклеточной жидкости ткани животного составляет 0,15 моль/л, а в клетке — 0,01 моль/л. Катионы K<sup>+</sup>, наоборот, концентрируются в основном в клетке — 0,12—0,16 моль/л, в межклеточной жидкости их концентрация не превышает 0,004 моль/л. Соотношение концентраций ионов Na<sup>+</sup>

и  $K^+$  в клетке и в межклеточном пространстве обеспечивается с помощью специальной белковой системы — «натрий-калиевого насоса», который локализован в клеточной мембране.

Ионы двухвалентных металлов ( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ) в мышце относительно прочно соединены с белками и находятся в осмотически недействительном состоянии. В частности, около 60 % ионов кальция связаны с актином, 35 % — с миозином и 5 % — со стромой.

Работающая мышца нуждается в энергии, источником которой является АТФ. В свою очередь, АТФ постоянно ресинтезируется на основе гликолиза гликогена, в процессе которого глюкоза превращается в молочную кислоту.

Однако гликолиз не является единственным источником энергообеспечения работающих мышц. Наряду с АТФ в них имеется и другое макроэргическое соединение — **креатинфосфорная кислота**, концентрация которой в 4—5 раз превышает концентрацию АТФ. Остаток фосфорной кислоты данного макроэрга под действием фермента **креатинфосфокиназы** легко переносится на АДФ с образованием АТФ. В период покоя в мышцах происходит накопление креатинфосфорной кислоты.

Биохимические процессы, происходящие в мясе после убоя животного, условно разделяют на три последовательные фазы: окоченение, созревание и глубокий автолиз.

**Первая фаза — окоченение** — длится 1—2 сут. Мясо при этом затвердевает, рН уменьшается от 7,3—7,5 в живой мышце до 5,3—5,5. Причиной повышения кислотности является распад гликогена и глюкозы. Резко уменьшается содержание органического фосфора в результате распада АТФ и креатинфосфата.

**Вторая фаза — созревание мяса** — это самопроизвольный процесс изменения биохимического состава, протекающий после убоя животного. Процесс протекает под влиянием ферментов мяса и приводит к появлению специфического приятного вкуса, сочности и аромата. При температуре 2—3 °С созревание мяса протекает 12—15 сут., при 18 °С оно завершается на вторые сутки, а при 29 °С — через несколько часов.

Созревание мяса связано с явлениями гликогенолиза и приводит к увеличению в мясе содержания молочной кислоты. Дефосфорилирование нуклеотидов, креатинфосфата и гексозофосфатов приводит к увеличению содержания неорганического фосфора и повышению кислотности среды (рН 5,6—6,4).

В результате гидролиза белков под влиянием катепсинов и других протеолитических ферментов в мясе постепенно возрастает содержание свободных аминокислот.

При уменьшении рН, т. е. при повышении кислотности среды, комплексы белков распадаются, белки теряют гидрофильные свойства, и образуется жидкая фракция — **мясной сок**. Это водный

раствор, содержащий около 10 % органических веществ. Наряду с аминокислотами, молочной кислоты и производными фосфорной кислоты он содержит 6,4 % белков, 3 % экстрактивных веществ и 1,2 % минеральных веществ.

Мясной сок равномерно пропитывает мясную массу и в значительной степени определяет ее вкус и запах.

При долгом хранении мяса происходит его глубокий **автолиз**. При этом изменяются его запах, вкус, цвет и другие показатели. Различают два явления автолиза — **загар** и **гниение** мяса. Загар возникает при повышенной температуре хранения (15 °C и выше) в условиях прекращения доступа кислорода. При этом консистенция мяса становится рыхлой, цвет — серо-красный или серо-коричневым, запах — удушливо-кислым. Ускоренно расщепляется гликоген с образованием кислых продуктов гликолиза.

Белки разлагаются с образованием аминокислот и продуктов их более глубокого распада, в частности сероводорода.

Гниение мяса обусловлено разложением органических веществ под влиянием ферментов **бактерий**. При разложении белков образуются индол, скатол, путресцин, кадаверин, фенол, маркаптаны, аммиак и другие продукты.

Для предотвращения гниения мяса необходимо для убоя брать клинически здоровых, отдохнувших животных, правильно обескровливать туши, применять быстрое охлаждение, соблюдать правила хранения и консервирования.

### **10.3. Биохимия молока и продуктов его микробиальной переработки**

#### **10.3.1. Молоко**

Молоко представляет собой биологическую жидкость, которая образуется в молочной железе самок млекопитающих и предназначена для вскармливания новорожденных детенышей. Вместе с тем, молоко ряда животных и продукты его микробиальной переработки широко используются для питания людей всех возрастов.

В молоке около 200 индивидуальных веществ. Содержание наиболее важных из них показано в табл. 10.2.

Содержание воды в молоке в зависимости от вида животных варьируется в пределах 54—90 %. Интересно отметить, что в женском молоке в сравнении с коровьим белков в 3,3—3,5 раза меньше, углеводов в 1,6 раз больше, а минеральных веществ в 3 раза меньше. В белках коровьего молока преобладает казеин (80 %), а в женском молоке — сывороточные белки альбуминового типа (65 %).

Молоко — жидкость белого цвета, обладающая свойствами полидисперсной системы с элементами истинных и коллоидных

растворов, суспензий и эмульсий. Плотность молока — 1,027—1,033 г/см<sup>3</sup>, температура замерзания — около -0,55 °С, осмотическое давление — 6,66—6,76 кПа, реакция среды близка к нейтральной (рН = 6,5÷7,0).

Таблица 10.2

**Химический состав молока, %, некоторых млекопитающих**

Млеко-питаю-щее	Сухое вещество (после удаления воды)	Жир	Белки		Лак-таза	Минеральные вещества	Энергетическая ценность, кДж/100 г молока
			всего	в том числе казеина			
Корова	12,1	3,6	3,2	2,6	4,6	0,7	264
Коза	13,2	4,3	3,6	3,0	4,5	0,85	294
Овца	18,4	6,7	5,9	4,8	4,8	0,96	428
Буйво-лица	17,4	7,7	4,3	3,6	4,6	0,80	436
Олениха	36,7	22,5	10,3	8,7	2,5	1,4	1062
Лошадь	10,7	1,8	2,1	1,2	6,4	0,4	197
Верблю-дица	15,5	5,4	3,8	2,9	5,1	0,7	344
Китиха	н/д	42,0	12	н/д	1,5	0,9	н/д
Дельфи-ниха	н/д	45,0	5,6	н/д	1,4	0,6	н/д
Человек	11,8—12,9	3,3—5,3	0,9—1,1	0,3—0,4	6,6—7,0	0,2—0,3	291

Примечание: 4,19 кДж = 1 ккал.

Для понимания естественных биохимических процессов, происходящих в молоке, а также методов и приемов его технологической переработки важно вспомнить некоторые физико-химические особенности жидких растворов.

Различают растворы истинные и коллоидные. В контексте рассматриваемой темы нас интересуют водные растворы. Молекулы воды, как известно, являются диполями с сильным разделением зарядов (диэлектрическая проницаемость  $\epsilon = 84$ ).

Истинный раствор содержит ионное (например,  $\text{NaCl}$ ) или сильнополярное ковалентное ( $\text{H}^{\delta+} \rightarrow \text{Cl}^{\delta-}$ ) растворенное вещество в виде сольватированных ионов, а малополярные органические соединения с типично ковалентными связями (например, этанол, глюкоза) — в виде сольватированных индивидуальных молекул. В качестве индивидуальных молекул в ряде случаев могут выступать



и макромолекулы высокомолекулярных соединений (углеводов, белков и др.), образуя так называемые растворы ВМС.

В случае ионных и легко диссоциирующих на ионы соединений сольватная оболочка частиц формируется за счет **диполь-ионного** взаимодействия, ковалентные же соединения сольватируются за счет водородных связей и **диполь-дипольного** взаимодействия молекул растворителя со сравнительно слабо поляризованными группами (COOH, CONH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, OH и др.) мономеров и биополимеров.

**Коллоидные растворы** относятся к дисперсным системам, суть которых заключается в том, что в растворителе (**дисперсионной среде**) распределяется раздробленное вещество в виде более или менее мелких частиц (**дисперсная фаза**).

Мерой дисперсности является **поперечный размер** частиц  $a$  см либо обратная величина — дисперсность  $D = \frac{1}{a}$  см<sup>-1</sup>. Физический смысл последней сводится к числу частиц, укладываемых в 1 см.

Раствор называется **коллоидным**, или **золем**, если величина  $a$  лежит в пределах 10<sup>-7</sup>—10<sup>5</sup> см (1—100 мкм). Соответственно  $D = 10^7 \div 10^5$  см<sup>-1</sup>. Такие частицы содержат агрегаты множества молекул и обнаруживаются с помощью ультрамикроскопа. Укрупнение частиц дисперсной фазы приводит к образованию **суспензий** (твердое в жидком) либо **эмульсий** (жидкость в жидкости). Неоднородность суспензий и эмульсий обнаруживается при помощи обыкновенного микроскопа и даже невооруженным глазом.

В коллоидных растворах частицы дисперсной фазы образуют сольватированные **мицеллы**. В случае **лиофобных коллоидов**, образующихся из нерастворимых или малорастворимых в воде веществ (AgI, Fe(OH)<sub>3</sub>), сольватная (гидратная) оболочка мицелл формируется за счет двойного электрического слоя на поверхности гранул мицеллообразующего вещества.

В **лиофильных коллоидах** мицеллы образуются полимерными молекулами белков (например, казеина), крахмала, клея, кремневой кислоты. Их сольватация осуществляется за счет водородных связей и диполь-дипольного взаимодействия. В отдельных случаях может проявляться сольватация заряженных групп.

Агрегативная устойчивость коллоидных систем ограничена во времени. Слипание мицелл и выпадение в осадок дисперсной фазы называется **коагуляцией**. Обратный же процесс — перевод осадка в коллоидное состояние — называется **пептизацией**.

С целью предотвращения коагуляции мицеллы стабилизируют молекулами ПАВ (например, мыла), белков или углеводов, способными налипать на мицеллах и наращивать сольватную оболочку, что способствует поддержанию частицы «на плаву». И наоборот, вещества, разрушающие сольватные оболочки мицелл (электролиты, например NaCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, низшие спирты, ацетон), вызывают



коагуляцию (свертывание). Явления коагуляции и стабилизации характерны также для суспензий и эмульсий.

Выпадающие при коагуляции осадки могут приобретать вид студни. В свою очередь студни со временем могут сокращаться в объеме и выделять из себя жидкость. Такое явление называется **синерезисом**.

Одни студни при высыхании превращаются в жесткую хрупкую массу, которую можно истолочь в порошок (например, силикагель). Другие студни, например желатина и других белков, при высушивании сильно сжимаются и превращаются в эластичную массу. Последние способны поглощать жидкость и сильно набухать вплоть до образования золя.

Рассмотрим основные составные части молока. Химический состав молока определяет его биологическую ценность, влияет на условия технологической переработки, выход и качество молочных продуктов.

Средний состав сухого остатка коровьего молока показан на рис. 10.1.

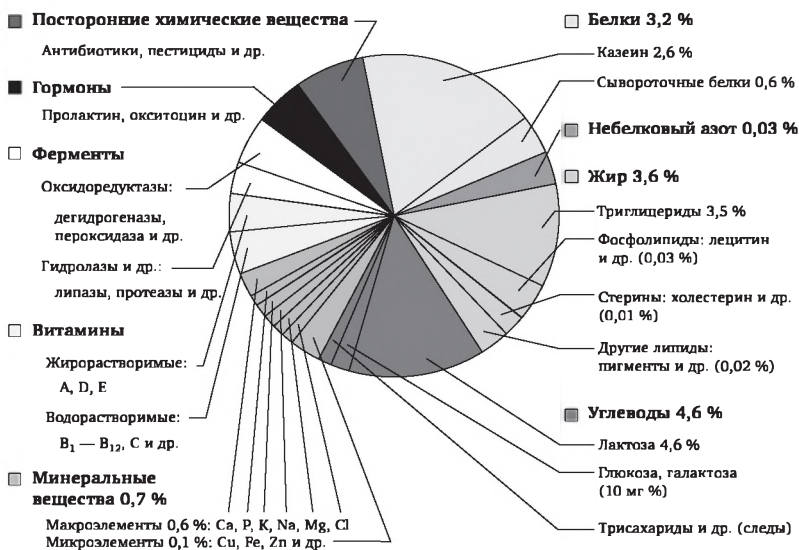


Рис. 10.1. Химический состав сухого остатка коровьего молока с массовой долей около 12 % (по К. К. Горбатовой)

В молоке содержится порядка 86—89 % **воды**. Большая ее часть (83—85 %) находится в свободном состоянии и может принимать участие в биохимических реакциях. 3—3,5 % воды находится в связанном состоянии. Она удерживается молекулярными силами около

коллоидных частиц **белков, фосфолипидов и полисахаридов**. Гидратация последних обусловлена наличием на поверхности их мицелл полярных групп (гидрофильных центров), обладающих способностью образовывать водородные связи.

Связанная вода не удаляется из молока высушиванием. По количеству связанной воды судят о гидрофильности белков. После удаления из молока свободной воды остается сухой остаток (11—14 %), содержащий все составные части природной композиции. Более постоянную величину, чем содержание сухого остатка, представляет собой содержание сухого **обезжиренного** молочного остатка (СОМО) (8—9 %). По СОМО судят о натуральности молока. Если эта величина меньше 8 %, то молоко, вероятно, разбавлено водой.

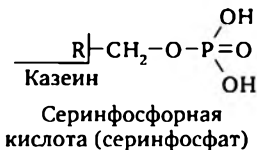
В состав молока входит в среднем 3,2 % белков — простых (**протеинов**) и сложных (**протеидов**). К числу протеидов относятся гликопротеиды, липопротеиды, фосфопротеиды, структуры более сложного строения.

Белки молока разделяют на три группы. К первой, основной группе относится казеин, содержащий четыре фракции, в частности  $\alpha$ - (две модификации),  $\beta$ - и  $\chi$ -казеин. Вторую группу составляют сычужные белки:  $\beta$ -лактоглобулин,  $\alpha$ -лактальбумин, иммуноглобулин, альбумин сыворотки крови и некоторые минорные белки (например, лактоферрин).

К третьей группе относятся белки оболочек жировых шариков, составляющих около 1 % всех белков молока. По природе это гликопротеиды, содержащие 15—50 % углеводов. Они играют роль стабилизаторов дисперсной системы, поскольку наращивают сольватную оболочку частиц дисперсной фазы, а также способствуют стабилизации жировых шариков во время технологической обработки.

Белки молока имеют глобулярную структуру.

Главным белком молока является **казеин** (2,1—2,9 %). Молекулярная масса  $M = 19\,000 + 25\,000$ . Все фракции казеина являются фосфопротеидами, т. е. содержат остатки фосфорной кислоты (органический фосфор), связанные с гидроксильной группой аминокислоты серина связью  $O-P^{\wedge}$



Остатки серинфосфата в полипептидных цепях казеина фракций  $\alpha$  и  $\beta$  определяет их чувствительность к ионам кальция. Кальциевые мостики между цепями казеинов вызывают их агрегацию и выпадение в осадок.

$\chi$ -Казеин содержит лишь один остаток серинфосфата и не образует таких мостиков, адсорбируется на поверхности казеиновых мицелл.

С ионами металлов ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ) казеин образует соли, а основные аминогруппы блокируются формальдегидом (см. п. 8.2), что позволяет определять содержание белков в молоке методом формольного титрования.

При иодировании тирозина, входящего в состав казеина, образуется иодказеин, используемый для борьбы с иодной недостаточностью в организме человека.

При осаждении казеина из молока кислотой (при pH 4,6—4,7) в сыворотке остается около 0,6 % белков, которые называются **сывороточными**. Они состоят из  $\beta$ -лактоглобулина,  $\alpha$ -лактальбулина, иммуноглобулинов, альбумина сыворотки крови и лактоферрина. Их выделяют из сыворотки с помощью ультрафильтрации и применяют для обогащения различных пищевых продуктов.

**$\beta$ -Лактоглобулин** (50—54 % белков сыворотки) подвержен тепловой денатурации, и при 85—100 °C он коагулирует почти полностью. При пастеризации молока денатурированный  $\beta$ -лактоглобулин вместе с  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  выпадает в осадок в составе молочного камня и образует комплексы с  $\chi$ -казеином казеиновых мицелл.

**$\alpha$ -Лактальбулин** (20—25 % белков сыворотки) устойчив к нагреванию, что обуславливает обратимость его денатурации — после охлаждения наблюдается восстановление его нативной свернутой структуры (**реденатурация**).

$\alpha$ -Лактальбулин необходим для биосинтеза лактозы из глюкозы и галактозы.

Структурными элементами оболочек жировых шариков являются **гликопротеиды**, обеспечивающие их стабильность при температурной и механической обработке молока и сливок.

В состав липидов молока входят нейтральные жиры (сложные эфиры глицерина и жирных кислот), фосфолипиды, стерины, в частности холестерин, как свободный, так и в виде стеридов, т. е. связанных кислотами в сложные эфиры. Содержание в молоке **молочного жира** колеблется в пределах 2,8—4,5 %.

Наряду с липидами различных типов в молочном жире обнаруживаются **пигменты** (каротин) и **витамины** (A, D, E). Витамин E — естественный антиоксидант жира.

В ряду **углеводов**, включенных в состав молока, обнаруживаются моносахариды, дисахариды, в незначительных концентрациях — трисахариды и более сложные олигосахариды. Моносахариды представлены **глюкозой**, **галактозой** и **фруктозой**. Важнейшие дисахариды: **лактоза** (молочный сахар), **мальтоза** (солодовый сахар) и **сахароза** (свекловичный сахар). Первые два дисахарида содержат в циклической форме гликозидный гидроксил, который

при раскрытии цикла в растворе трансформируется в альдегидную группу, что делает эти биозы довольно эффективными восстановителями и по этой причине — полезными для организма **антиоксидантами**. Сахароза в отличие от лактозы является нередуцирующим дисахаридом.

Основным углеводом молока является **лактоза**, выполняющая главным образом энергетическую функцию. При 20 °С в молоке она существует в  $\alpha$ - и  $\beta$ -формах в соотношении 40:60. Удельное вращение равновесного раствора составляет 52,5°.

Из водных растворов лактоза кристаллизуется в  $\alpha$ -форме с одной молекулой воды. В такой форме ее выделяют из молочной сыворотки и используют в пищевой и фармацевтической промышленности, в частности в производстве **пенициллина**. Кристаллизация лактозы имеет место при получении сгущенного молока.

При нагревании молока до температуры выше 100 °С (в условиях стерилизации и высокотемпературной обработки) молочный сахар (лактоза) частично превращается в **лактулозу**, которая отличается тем, что звено глюкозы исходного дисахарида замещено звеном фруктозы.

Лактулоза не выкристаллизовывается из воды. Она в 2 раза слаще лактозы, стимулирует развитие в кишечнике детей бифидобактерий и по этой причине широко используется в производстве продуктов детского питания.

Обычно при выработке сухих молочных продуктов применяют смесь лактулозы с лактозой — **лакто-лактулозу**.

Лактулозу используют для лечения ряда кишечных заболеваний, диабета, цирроза печени.

При высоких температурах (160—180 °С) молочный сахар карамелизуется, и его раствор приобретает коричневую окраску.

Нагревание молока выше 95 °С вызывает его легкое побурение как следствие взаимодействия лактозы с белками и свободными аминокислотами. При этом образуются **меланоидины** — вещества темного цвета с привкусом карамели.

Молочный сахар гидролизует под действием кислот, а также фермента **лактазы**, выделяемого молочнокислыми бактериями, дрожжами и другими микроорганизмами.

Лактоза под действием ферментов микроорганизмов подвергается брожению.

Различают **молочнокислое, спиртовое, пропионовокислое** и другие виды брожения. Все виды брожения до образования **пировиноградной кислоты** идут по одной и той же схеме. На первой стадии лактоза под влиянием фермента лактазы распадается на моносахариды. Галактоза не подвергается непосредственному брожению и предварительно изомеризуется в глюкозу. Ферменты,

вызывающие брожение, характеризуются высочайшей субстратной селективностью и ассимилируют только  $\alpha$ -глюкозу.

В молоке обнаруживаются **макроэлементы** (Ca, P, Mg, Na, K, Cl, S) и **микроэлементы** (Fe, Cu, Zn, I и др.). Среднее содержание наиболее важных макроэлементов в молоке (в мг %, т. е. в мг на 100 г продукта): кальций — 120 ( $120 \cdot 10^{-3} \% = 0,12 \%$ ); фосфор — 95, калий — 140, натрий — 50, магний — 12, хлор — 100. В ряду продуктов «молоко — творог — сыр» содержание минеральных веществ существенно возрастает. Например, содержание кальция (мг/100 г) составляет соответственно 120, 170, 1040.

**Микроэлементы** в молоке связаны с белками и оболочками жировых шариков. Их содержание составляет около 0,1 % всех минеральных веществ. Характерно, что коровье молоко мало содержит **железа и меди**. Поэтому в детские молочные смеси добавляют глицерофосфат железа, сульфат меди и др.

Наиболее важные ферменты молока относятся к классам **оксидоредуктаз** и **гидролаз**. Многие из них продуцируются микроорганизмами молока. Различают внеклеточные ферменты (**экзоферменты**), связанные с процессом питания, и внутриклеточные ферменты (**эндоферменты**), которые действуют внутри клетки.

Оксидоредуктазы: дегидрогеназы, оксидазы, пероксидаза, каталаза — катализируют окислительно-восстановительные реакции в живом организме. Интересно отметить, что дегидрогеназы молочной железой не вырабатываются, а накапливаются в молоке в результате деятельности бактерий. С помощью редуктазной пробы на производстве оценивают бактериальную осемененность молока, используя при этом в качестве восстановителей (донора молекулы  $H_2$ ) **метиленовый голубой** или **резазурин**.

Дегидрогеназы, вырабатываемые молочнокислыми бактериями и дрожжами, играют важную роль в молочнокислом и спиртовом брожении. В этих процессах функционируют соответственно **лактатдегидрогеназа** и **алкогольдегидрогеназа**.

Из оксидаз отметим **ксантиноксидазу**, которая окисляет альдегиды и пуриновые основания (ксантин) до соответствующих кислот.

К **гидролитическим ферментам** относятся липазы, фосфатазы, протеазы, лактаза, амилаза и лизоцим.

**Липазы** катализируют гидролиз триглицеридов молочного жира. Различают нативную и бактериальную липазы. Действие липаз, связанное с выделением низкомолекулярных кислот (масляной, капроновой и др.), приводит к прогорканию молока. Высокой активностью обладают липазы, продуцируемые микрофлорой молока — **психотрофными бактериями** и **плесневыми грибами**.

Нативные липазы инактивируются при температуре пастеризации ( $80^\circ C$ ). Бактериальные липазы более термостабильны, разрушаются при  $80-90^\circ C$ .

**Фермент фосфатазы** гидролизует эфиры фосфорной кислоты. Различают щелочную и кислую фосфатазу с оптимумом действия при pH 9,6 и 5,0 соответственно. Щелочная фосфатаза чувствительна к повышению температуры — она разрушается уже при нагревании (63 °C) в течение 30 мин.

**Протеазы** (протеолитические ферменты) с высокой специфичностью катализируют гидролиз пептидных связей белков и полипептидов. Небольшое количество нативной протеазы (плазмина) переходит в молоко из крови.

Микрофлора молока выделяет активные протеазы, способные вызывать различные пороки молока и масла. Так, при размножении в молоке микрококков и гнилостных бактерий появляется его горький вкус.

Молочнокислые бактерии вырабатывают малоактивные протеазы, имеющие, однако, важное значение при созревании сыров. При производстве последних для свертывания молока применяют протеолитический фермент животного происхождения — **сычужный фермент (химозин)**. Известны и заменители сычужного фермента — **пепсин** и протеолитические ферменты микробного происхождения.

Важным ферментом молока является **лизоцим (мурамидаза)**. Он гидролизует полисахариды клеточных стенок бактерий и вызывает их гибель, действуя, таким образом, вместе с другими антибактериальными факторами (иммуноглобулинами, лактоферрином, лактопероксидазой, лейкоцитами и др.). В женском молоке лизоцима в 3000 раз больше, чем в коровьем.

В молоке из молочной железы переходит фермент **лактосинтаза**, осуществляющей синтез лактозы из глюкозы и галактотозы, а при спиртовом брожении в кефире и кумысе расщепление пировиноградной кислоты на  $\text{CO}_2$  и уксусный альдегид катализирует **пироватдекарбоксилаза**.

Молоко содержит практически все витамины, необходимые для нормального развития человека. Они попадают в него вместе с кормом животных и синтезируются микрофлорой рубца.

Содержание витаминов изменяется при хранении и тепловой обработке молока (пастеризации, сгущении, сушке). Некоторые из витаминов окисляются либо разлагаются.

В молоко из крови поступают **гормоны** — химические стимуляторы, образующиеся в клетках желез внутренней секреции и регулирующие обмен веществ в организме. По природе они могут быть полипептидами (инсулин, пролактин), стероидами (половые гормоны) и производными аминокислот (тироксин и др.). В частности, **пролактин** стимулирует развитие молочных желез и образование молока; **окситоцин** стимулирует отделение молока.

Молоко при получении и обработке соприкасается с воздухом, что обуславливает попадание в молоко газов (80—120 мг в 1 кг молока). Доля  $\text{CO}_2$  — 50—70 %, кислорода — 5—10 %, азота — 20—30 %.

В процессе хранения вследствие развития микрофлоры в молоке понижается содержание кислорода. По степени его снижения можно судить о качестве заготавливаемого молока.

Из окружающей среды через организм животного в молоко могут попадать различные чужеродные химические вещества (**ксенобиотики**) и вещества биологического происхождения, опасные для здоровья человека (рис. 10.2).

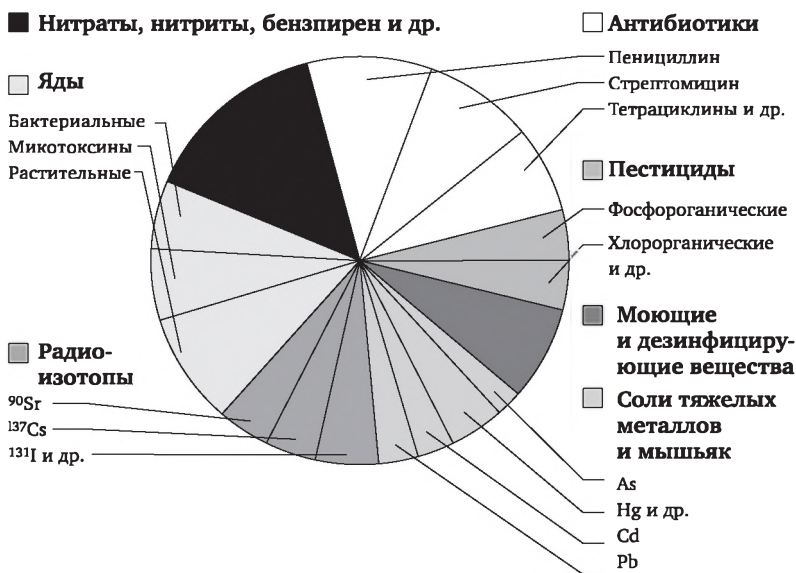


Рис. 10.2. Посторонние химические вещества молока (по К. К. Горбатовой)

Так, в молоке могут оказаться лекарственные препараты, в частности **антибиотики**, которые используют при лечении заболеваний животных (например, мастита). Присутствие в молоке антибиотиков изменяет его свойства, в частности подавляет развитие молочнокислых бактерий, участвующих в производстве кисломолочных продуктов. Антибиотики нарушают процесс **сычужного** свертывания молока при производстве творога и сыра, что приводит к ухудшению их качества.

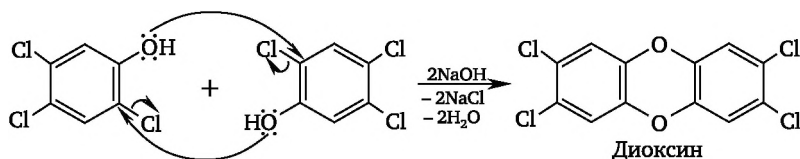
В организм животных, а затем и в молоко попадают различные **пестициды** — химические вещества, используемые в сельском хозяйстве для защиты растений и животных от болезней и вредителей.



**Фосфоорганические** пестициды (хлорофос, карбофос, фосфамид и др.) довольно быстро разрушаются в пищеварительном тракте животного и переходит в молоко в незначительных количествах. В то время как **хлороорганические** пестициды (ДДТ, альдрин, гексахлоран и др.) сильно токсичны и отличаются высокой стойкостью во внешней среде. Они могут накапливаться годами в почве, жировых тканях, в органах животных и человека, попадая, естественно, и в молоко.

К числу опасных загрязнителей молока относятся канцерогенные полициклические ароматические углеводороды типа антрацена, 3,4-бензпирен, полихлорбифенилы, входящие в группу высокотоксичных диоксинов, и соли тетраалкиламмония. Последние обладают сильным бактерицидным действием и способны подавлять полезную для организма микрофлору.

Заражение животного по цепочке: почва — растения — животные — мясо, молоко — прослеживается на примере препарата пестицидного действия — 2,4,5-трихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4,5-Т). В техническом продукте этого пестицида обнаруживаются примеси 2,3,7,8-тетрахлордибенздиоксина (**диоксина**), который в минимальных дозах вызывает **тератогенный эффект** у животных и человека. Образование тетрахлордибенздиоксина в процессе синтеза гербицида 2,4,5-Т происходит вследствие побочного превращения одного из реагентов — трихлорфенола:



Суть тератогенного эффекта заключается в том, что вещество (**тератоген**) вызывает определенные нарушения в соматических клетках развивающегося зародыша, при этом генеративные клетки могут быть не затронуты. Таким образом, тератоген поражает не организм, его ассимилирующий, а последующие поколения, вызывая функциональные отклонения и физические поражения. В настоящее время большинство лекарственных препаратов, пищевых добавок, косметических средств и т. п. подвергаются проверке на тератогенные свойства. К числу тератогенов относятся пенициллин, витамины А, D и Е, никотин, соли ртути и др.

В последнее время диоксин обнаруживался в крупных партиях говяжьего мяса.

Большую угрозу для здоровья человека представляют попадающие в молоко соли **тяжелых металлов** (ртути, свинца, кадмия, меди, цинка) и **радиоактивные** изотопы. Характерно, однако, что



радиоактивное молоко вполне пригодно для выработки масла, поскольку в него переходит менее 1 % радиоактивных изотопов от общего их количества в молоке.

При вскармливании животных ядовитыми растениями, зерновыми кормами с примесью ядовитых семян, проросшим картофелем в молоко попадают различные растительные яды (**токсины**). Их токсичность обусловлена наличием **алкалоидов** (колхицина, соланина, госсипола, эфирных масел полыни и горчицы и др.). Сильнодействующие токсины (**микотоксины**) продуцируют некоторые виды плесневых грибов (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Aspergillus flavus* и др.), поражающие сено, солому, зерно.

Молочные продукты могут быть отравлены и токсинами бактериального происхождения, например вырабатываемыми **стафилококками**. Их продукты жизнедеятельности — энтеротоксины — выдерживают пастеризацию и разрушаются только при кипячении молока в течение 2 ч. Источниками загрязнения молока стафилококками могут быть не только больные животные, но и люди с гнойничковыми поражениями рук или больные ангиной.

### 10.3.2. Биохимические и физико-химические процессы при производстве кисломолочных продуктов и сыров

В производстве кисломолочных продуктов главное место занимают процессы **брожения сахаров, коагуляции казеина и гелеобразования**. Наряду с энергетической функцией кисломолочных продуктов их пищевая ценность проявляется в том, что имеющиеся в их составе микроорганизмы способны подавлять в кишечнике гнилостную микрофлору и тормозить образование ядовитых продуктов распада белка, поступающих в кровь.

Брожение молочного сахара (лактозы) осуществляется микроорганизмами бактериальных заквасок. Его скорость и направление определяют консистенцию, вкус и запах готовых продуктов.

Выделяют **две группы** кисломолочных продуктов. В основе приготовления продуктов **первой** группы: простокваши, йогурта, ацидофилина, творога, сметаны — лежит главным образом молочнокислое брожение. Ко **второй** группе относятся продукты, полученные на основе смешанного брожения — молочнокислого и спиртового: кефир, кумыс, ацидофильно-дрожжевое молоко.

Химизм этих процессов представлен в гл. 5. В дополнение отметим, что многие молочнокислые бактерии при сбраживании сахара кроме молочной кислоты образуют ряд других веществ, придающих продуктам специфический вкус и аромат. К ним относятся низшие кислоты (уксусная, пропионовая и др.), карбонильные соединения (диацетил, ацетоин, ацетальдегид), спирт,  $\text{CO}_2$ .

Молочнокислые бактерии, образующие в качестве основного продукта брожения молочную кислоту (*Lac. lactis*, *Lac. cremoris*

и др.), относятся к **гомоферментативным** микроорганизмам. Бактерии (*Leuc. cremoris*, *Leuc. dextranicum*), которые кроме молочной кислоты продуцируют в значительных количествах другие продукты, в частности этанол, называются **гетероферментативными**. На практике зачастую используют комбинации различных типов бактерий.

Содержание спирта в кисломолочных продуктах определяется видом микроорганизмов, температурой и продолжительностью созревания. В кумысе спирт составляет 1—3 %, в кефире — 0,01—0,03 %. Для них характерен также частичный распад белков (**протеолиз**) с образованием аминокислот.

В твороге также образуются наряду с молочной кислотой диацетил, ацетальдегид, низшие карбоновые кислоты и аминокислоты.

Производство твердых сыров можно разделить на две стадии: **свертывание** и **созревание**. Свертывание молока протекает под влиянием **сычужного** фермента при pH 5,2—6,3. Последний представляет собой смесь **зимозина** и **пепсина** в процентном соотношении (60—70):(30—40).

Имеется большое количество заменителей сычужного фермента — ферментативные препараты растительного и микробного происхождения. Наиболее перспективны для молочной промышленности препараты плесневого происхождения: «Супарен», «Фромаза» и др.

Свежесыроемленное молоко плохо свертывается сычужным ферментом. Предварительно оно выдерживается при 8—12 °С в течение 10—14 ч.

Вторая фаза сыроделания — созревание — связана с **формированием** и **прессованием** творожной массы. Молочнокислый процесс при этом активно продолжается и сопровождается глубокими ферментативными изменениями компонентов продукта, в результате которых он приобретает свойственные сыру вкус, запах, консистенцию и структуру.

Накопление молочной кислоты в процессе брожения приводит к понижению pH раствора до значения изоэлектрической точки казеина (pI 4,6—4,7). При этом от казеинаткальцийфосфатного комплекса отщепляются фосфат кальция и структурообразующий кальций, что приводит к дестабилизации казеиновых мицелл.

При выработке творога кислотно-сычужным способом на казеин совместно действуют молочная кислота и внесенный **сычужный** фермент. Под действием сычужного фермента казеин превращается в параказеин (pI 5,0—5,2). Агрегация казеина и параказеина приводит к образованию пространственной сетки с захватом в ячейки жировых шариков и других компонентов системы. Процесс гелеобразования завершается уплотнением сгустка и **синерезисом**, связанным с вытеснением заключенной между цепями казеина воды.

Важную роль играет посолка сыра на этой стадии хлоридом натрия, существенно влияющая на микробиологические и биохимические процессы.

В процессе созревания сыра образуются не только аминокислоты, но и продукты их метаболизма, в том числе отмеченных выше различных типов дезаминирования, трансаминирования и декарбоксилирования. Жиры расщепляются **липолитическими ферментами** с высвобождением жирных кислот. Источником липаз в твердых сырах является микрофлора бактериальных заквасок и препаратов — молочнокислые палочки, стрептококки и пропионовокислые бактерии.

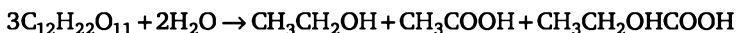
Некоторые мягкие сыры (рокфор и др.) созревают при участии вносимой в них плесени. Острый вкус и запах этих сыров определяются присутствием масляной, валериановой, капроновой и каприновой кислот, содержание которых в твердых сырах незначительно.

В процессе созревания сыра вследствие биохимических реакций выделяются газы: углекислый газ, аммиак, водород и др. — которые, выделяясь наружу и частично задерживаясь в массе, образуют глазки.

В сырах с высокой температурой второго нагревания образование глазков обуславливают пропионовокислые бактерии, сбраживающие молочный сахар, молочную кислоту и ее соли.



Большое количество газов образуют бактерии группы кишечных палочек:



Образование в сыре крупных глазков неправильной формы обуславливает маслянокислое брожение:



### Вопросы и задания для самоконтроля

1. Опишите состав и биологические функции крови. В чем суть осмотического давления и какова функция буферной системы?
2. Охарактеризуйте химический состав мяса как одного из важнейших продуктов животноводства.
3. Представьте химический состав молока млекопитающих.
4. Назовите основные загрязнители молока.
5. Покажите основные пути микробальной переработки молока. Охарактеризуйте кисломолочные продукты и сыры.

## Глава 11

# БИОХИМИЯ ВИНА

В состав винограда и вина включены химические соединения различных классов: углеводы, органические и ароматические кислоты, фенолы и их гидроароматические производные, азотистые, минеральные и другие вещества. В винограде эти соединения распределены неравномерно, например углеводы (сахара) сосредоточены в соке ягоды, фенольные соединения — в кожице винограда, гребнях и семенах; ароматические соединения — в кожице.

В процессе переработки винограда они переходят в вино, где частично претерпевают сложные химические и биохимические превращения с образованием новых соединений. Эти превращения зависят от технологии, поэтому различные типы вин, полученные из одного и того же сорта винограда, будут отличаться по своему химическому составу.

Биохимия вина изучает сущность ферментативных процессов, происходящих при изготовлении вина. Знание механизма ферментативных реакций на стадиях формирования и образования вина позволяет управлять технологическими процессами. Например, при быстром отделении сусла от мезги с последующим применением **сульфитации** можно получать легкие столовые вина и шампанские виноматериалы, в то время как при выдержке сусла на мезге и брожении с мезгой получают кахетинские вина. А путем спиртования сусла, не прошедшего полного цикла брожения, получают десертные и крепленые вина. При вторичном брожении виноматериалов на специальных расах дрожжей получают шампанское и херес.

Проблема улучшения аромата и вкусовых качеств вина тесно связана с изучением ферментативных процессов, ведущих к образованию спиртов, кислот, простых и сложных эфиров, лактонов, фуранов, терпеноидов, многоатомных фенолов, азотистых веществ и целой гаммы минорных компонентов.

### 11.1. Химический состав винограда и сусла

В ягодах винограда содержатся сахара, главным образом глюкоза, фруктоза и сахароза, органические кислоты, ферменты, витамины, азотистые и фенольные вещества.

В винограде найдено более 400 компонентов и еще больше — в вине. Химия и биохимия важнейших классов соединений: углеводов, липидов, ферментов и витаминов показаны в представленных выше главах, что упрощает задачу описания физико-химических свойств и метаболизма соединений этого ряда в винограде и вине.

### 11.1.1. Углеводы (сахара)

Самыми массовыми представителями моносахаридов в ягодах винограда являются *D*-глюкоза и *D*-фруктоза (10—30 % и более). В основном фотосинтез углеводов виноградной лозы осуществляется в зеленых листьях.

В начале формирования ягод винограда содержание моносахаридов составляет около 1 % и представлено в основном глюкозой. Фруктоза появляется позже, и в период налива ягоды соотношение глюкозы и фруктозы приближается к единице. В зависимости от сорта винограда и условий его выращивания это отношение может колебаться в пределах 0,7—1,5. В сухих столовых винах общее количество сахаров значительно уменьшается и варьируется в пределах 0,07—0,4 %, а отношение глюкозы к фруктозе составляет 0,3—1,6.

При получении сухих вин количественное соотношение глюкозы и фруктозы не имеет значения. Для десертных и крепких вин это соотношение, напротив, очень важно, так как фруктоза в 1,85 раз слаще глюкозы. Причем пороговая концентрация ощущаемой на вкус фруктозы составляет 1,3—1,5 г/л, а глюкозы — 4,0—4,5 %. Этиловый спирт усиливает восприятие сладкого вкуса, а фенольные соединения его ослабляют.

Общее содержание сахаров в период физиологической зрелости ягод у технических сортов винограда колеблется в пределах 17—25 %. Сахаристость увяленного винограда, применяемого для изготовления некоторых типов вин (мускатов, токай), достигает 30—50 %. Характерно, однако, что в процессе усушки ягод часть сахаров и особенно фруктозы разрушается.

Большинство штаммов дрожжей предпочтительнее сбраживают глюкозу, хотя отдельные виды, например **сотернские дрожжи**, лучше сбраживают фруктозу.

Из ряда олигосахаридов, включающих до 12 звеньев моносахаридов (полисахаридов I порядка), в винограде больше всего содержится **сахарозы**. В незначительных количествах присутствуют также **мальтоза**, **целлобиоза** и трисахарид **рафиноза**.

Как известно, сахароза является основным запасным углеводом ряда растений (сахарной свеклы, сахарного тростника). Что касается винограда, то в некоторых европейских сортах его количество достигает 3,9 %, а в отдельных мичуринских сортах — 7,2 %. Сахароза появляется в ягоде при достижении определенного уровня содержания в ней глюкозы и фруктозы. В то же время в бродящем

сусле и в вине под влиянием фермента  $\beta$ -фруктофуранозидазы происходит инверсия сахара, т. е. гидролиз сахарозы с образованием эквивалентных количеств глюкозы и фруктозы (инвертного сахара). В этих условиях частично происходит и обычный кислотный гидролиз дисахарида.

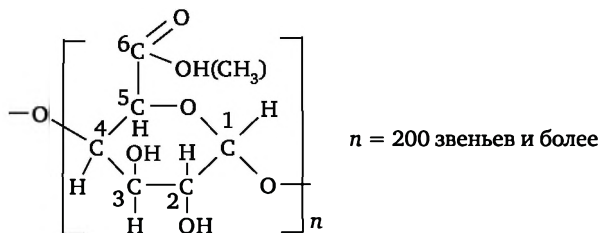
При нагревании сахарозы при температуре выше температуры плавления (190—200 °С) происходит дегидратация с образованием полимерных продуктов — **карамельей**, которые под названием «колер» используются для придания окраски коньякам.

В винограде и продуктах его переработки обнаружены и высокомолекулярные углеводы (полисахариды II порядка): пентозаны, пектины и камеди. В виноградном сусле их содержание составляет 2—4 г/л, а в вине — 1—3 г/л.

Из **пентозанов** в вине преобладают арабаны и ксиланы в соотношении 3:1. Содержатся пентозаны преимущественно в гребнях (1,05—2,79 %), в кожце (1,08—1,57 %) и в семенах (3,87—4,54 %). В винах их количество значительно меньше (0,03—0,15 %). Однако при настаивании на мезге содержание пентозанов в вине может достигать 2 г/л.

В винограде и винах имеются **пектиновые вещества**, разделяемые на несколько групп: протопектин, растворимый пектин, пектовая и пектиновая кислоты, их щелочные соли и соли кальция.

Пектиновые вещества представляют собой простые полиэферы, состоящие из частично метоксилированных (на 30—80 %) остатков **галактуроновой кислоты**, связанных  $\alpha$ -1,4-связями:



В полимерные цепи пектина могут также включаться наряду с *D*-галактуроновой кислотой циклы *D*-галактозы, *D*-ксилозы, *L*-арабинозы, в ряде случаев — *D*-глюкозы (до 12 масс. %).

**Протопектин** включает в свои цепи также звенья крахмала, целлюлозы, галактана и некоторых других углеводов.

Пектиновые вещества играют важную роль при созревании, хранении и промышленной переработке плодов и овощей.

Протопектин входит в состав клеточных стенок и в воде нерастворим. Под действием органических кислот или фермента протопектиназы он превращается в пектин. Такие же превращения имеют место при созревании плодов.



Различают **пектовые** и **пектиновые** кислоты. Пектовые кислоты представляют собой низкомолекулярные полимеры ( $n = 5 \div 100$ ), содержащие только карбоксильные группы. Пектиновые кислоты характеризуются большей молекулярной массой (100—200) и содержат значительное количество сложноэфирных групп.

Пектины содержатся во всех частях растительной клетки. Особенно его много в клеточном соке. Пектины образуют заряженные отрицательно **гидрофильные коллоиды**, обладающие высокой вязкостью. На их желеобразующую способность влияют молекулярная масса и метоксильное число. В мякоти ягоды винограда содержится до 40 % растворимых коллоидов, а в кожице и семенах около 30 %. Общее количество коллоидов в вине в 2 раза меньше, чем в сусле, и составляет 300 мг/л.

В отличие от желатина и агара золи пектина переходят в гель только в присутствии сахара с добавками кислоты либо поливалентных металлов. Например, достаточно плотное желе образует 58 %-ный раствор сахара при концентрации пектина 1 % (рН 2,6—3,1).

При брожении содержание пектиновых веществ в виноматериале уменьшается на 50—80 % вследствие их гидролиза пектинолитическими ферментами сусла и дрожжей. При брожении происходит гидролиз сложноэфирных групп в звеньях галактуроновой кислоты, в результате чего в среде накапливается **метанол**. Однако, несмотря на то, что содержание метанола при брожении увеличивается в 10—20 раз, его концентрация обычно не превышает санитарно-гигиенической нормы (0,05 об. %).

Заметим, что получаемый брожением яблочного сока яблочный сидр отличается более высоким содержанием метанола, что делает опасным его регулярное потребление.

Пектиновые вещества являются источником уроновых кислот и фурфурола в вине.

В виноградном сусле в значительных количествах (0,3—4 г/л) содержатся **камеди** — кальциевые, магниевые или калиевые соли высокомолекулярных кислот, состоящих преимущественно из звеньев гексоз, пентоз и уроновых кислот, в частности галактуроновой кислоты.

В молодом вине концентрация камедей составляет 0,2—3,0 г/л.

Углеводы играют важную роль в формировании органолептических качеств вин, оказывая влияние на их вкус, цвет, аромат и стабильность.

По некоторым данным, коллоиды мякоти виноградной ягоды состоят из пектинов (50 %), белков (1,8—15 %), галактанов (15 %) и арабанов (5 %). А в коллоидах семян доли пектинов и галактанов примерно одинаковы (20—25 %).

Источником полисахаридов в вине могут быть и дрожжи за счет разрушения их клеточных оболочек. Прежде всего, в вино переходят

дят маннан и глюкан. Полисахариды, находящиеся в коллоидном состоянии, влияют на стабильность вин и требуют в ряде случаев процедур, связанных с их осветлением.

### 11.1.2. Азотистые вещества

Азотистые вещества винограда состоят из органических и минеральных форм азота. К первым относятся белки, полипептиды, аминокислоты, амиды и амины, а ко вторым — нитраты, нитриты и аммиачные соли (всего 2,3—10,0 г/л сока).

Основная доля азота приходится на аминокислоты и полипептиды (38—78 %). Минеральные формы азота составляют 5—15 %.

Виноградная лоза ассимилирует аминокислоты и белки из почвы. Кроме того, аминокислоты синтезируются путем ферментативных превращений углеводов. Аминокислотный состав виноградного сока зависит от сорта винограда, почвы, климатических условий и агротехники.

В процессе созревания и переработки винограда аминокислоты подвергаются ферментативным превращениям, представленным в гл. 8 (дезаминированию, переаминированию, декарбоксилированию и др.).

Из полипептидов, играющих важную роль в обмене веществ, отметим **глутатион**, состоящий из остатков трех аминокислот: гликокола, цистеина и глютаминовой кислоты (см. п. 8.1). Являясь сильным восстановителем, он окисляется по сульфгидрильной группе ( $-SH$ ). При этом две молекулы глутатиона соединяются дисульфидной связью ( $-S-S-$ ), образуя молекулу окисленного глутатиона. **Белковые** вещества винограда довольно разнообразны и отличаются сравнительно невысокой молекулярной массой. Обработка вина бентонитом значительно снижает содержание белка.

### 11.1.3. Карбоновые кислоты

В ягодах винограда содержится значительное количество органических кислот, представленных главным образом винной и яблочной кислотами. В небольших количествах присутствуют также уксусная, лимонная, янтарная, гликолевая, щавелевая и другие кислоты. Благодаря создаваемой ими кислотности в сусле подавляется развитие болезнетворных микроорганизмов и создаются благоприятные условия для деятельности винных дрожжей.

Органические кислоты образуются в процессе гликолиза и гликогенолиза углеводов, метаболизма аминокислот, превращений в **цикле трикарбоновых кислот** и в **глиоксальном цикле**. В то же время сами кислоты служат исходным материалом для биосинтеза углеводов, аминокислот, эфиров и других соединений.

Одноосновные **насыщенные кислоты** ( $C_1—C_8$ ) в виноградном соке содержатся в небольших количествах (30—150 мг/л). Исклю-



чение составляет уксусная кислота, содержание которой может достигать 1500 мг/л.

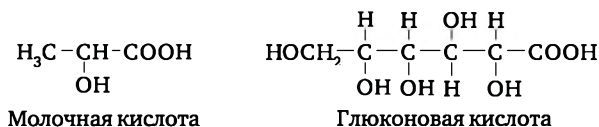
При брожении виноградного сусла происходит накопление кислот. Например, концентрация уксусной кислоты в вине увеличивается в 20—50 раз. Степень ее накопления зависит от расы дрожжей, условий брожения (температуры, степени аэрации). В процессе выдержки вин уксусная кислота накапливается в результате окисления этилового спирта.

При микробиальных заболеваниях вина могут образовываться наряду с уксусной (до 3,5 г/л) пропионовая (до 400 мг/л) и масляная (до 50 мг/л) кислоты.

Из **дикарбоновых** кислот в виноградном сусле обнаруживаются щавелевая ( $\text{HOOC-COOH}$ ) и янтарная ( $\text{HOOCCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ ) кислоты (0,15—0,3 г/л). В вине содержание янтарной кислоты может увеличиваться в 3—5 раз.

Щавелевая кислота способна образовываться из винной кислоты и находится в виде Na-, K-, Ca-солей. Незрелый виноград содержит значительные количества **янтарной кислоты** — 15—20 г/кг. В процессе созревания ее содержание быстро уменьшается и при физиологической зрелости ягод составляет порядка 2 г/кг.

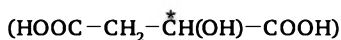
Наиболее распространенными **одноосновными оксикислотами** в вине являются молочная и глюконовая кислоты.



В винограде содержится *L*-молочная кислота (до 50 мг/л). В заметных количествах (до 0,5 г/л) она образуется в молодом вине из сахара как вторичный продукт брожения. В белых винах найдено молочной кислоты от 0,5 до 2,5 г/л, а в красных — до 5,0 г/л, хотя в ряде случаев ее содержание может достигать 12 г/л.

Природная *D*-глюконовая кислота образуется при ферментативном окислении β-*D*-глюкозы. Обычно в винограде и вине ее концентрация составляет около 120 мг/л. Однако в вине из винограда, пораженного гнилью, ее содержание может возрасти до 10 г/л.

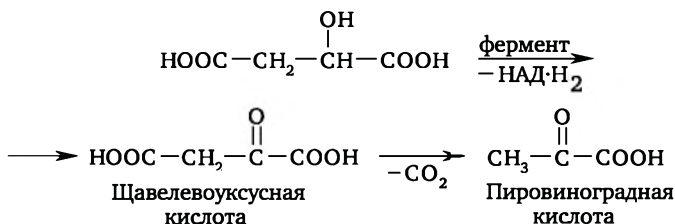
**Двухосновная оксикислота — яблочная**



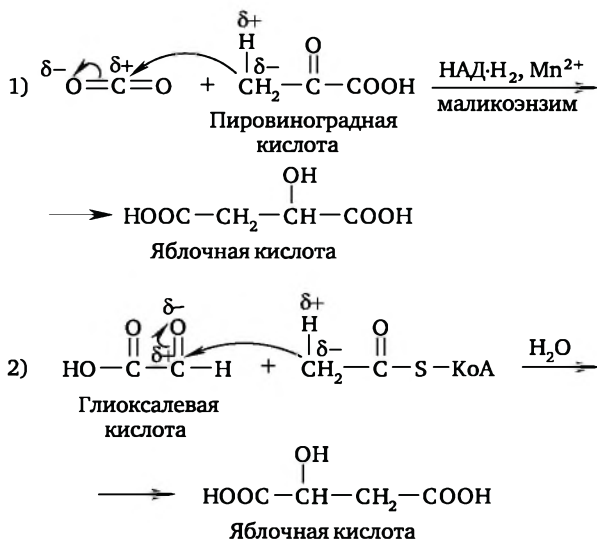
существует в виде *L*- и *D*-оптических изомеров, более широко распространена *L*-форма. Пищевая яблочная кислота получается химическим синтезом в виде рацемата.

*L*-яблочная кислота содержится в виноградной грозди и в листьях. Особенно много (до 15 г на 1 кг винограда) ее накапливается

в незрелых ягодах. В процессе созревания ягод количество кислоты уменьшается до 2—5 г/кг. Это обусловлено тем, что яблочная кислота высоко реакционноспособна и участвует в обмене веществ. Она служит промежуточным продуктом при синтезе ряда веществ, в том числе и углеводов. Например, в процессе созревания винограда яблочная кислота дегидрируется ферментом **маликодегидрогеназой** в присутствии НАД в **щавелевоуксусную** кислоту, которая, в свою очередь, **декарбоксилируется** в **пировиноградную**:



Сама же яблочная кислота синтезируется под влиянием ферментов согласно схемам:



Концентрация яблочной кислоты в вине может достигать 5 г/л, однако в винах, в которых прошло яблочно-молочнокислое брожение, обнаруживаются только ее следы. С целью понижения кислотности некоторых сортов красного вина преднамеренно осуществляют яблочно-молочное брожение с помощью соответствующих бактерий.

Полагают, что превращение яблочной кислоты в молочную происходит через щавелевоуксусную кислоту, а не путем прямого декарбоксилирования.

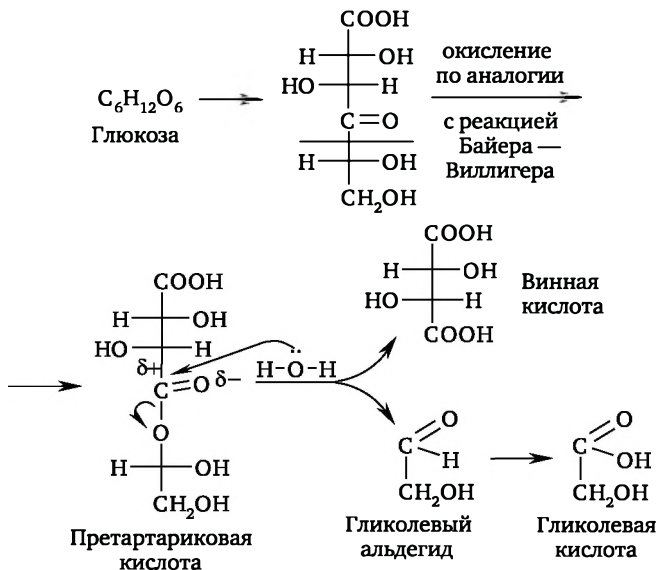
Важнейшей из оксикислот винограда и вина является двухосновная кислота — винная, или диоксидвинная кислота.



В виноградной лозе и в ягодах винограда преобладает *D*-винная кислота. Содержание ее в виноградном сусле варьируется в пределах 2—7 г/л, а в вине — 1,5—5 г/л.

*L*-винная кислота присутствует в значительных количествах в листьях *Vitis rotundifolia* (до 50 г на 1 кг). Мезо-винная кислота в растениях не встречается. Она образуется из изомеров винной кислоты при кипячении их со щелочью.

Источником биосинтеза винной кислоты является прежде всего глюкоза. Одна из вероятных схем ферментативного превращения глюкозы представляется следующим образом:



Винная кислота образует кислые и средние соли (преимущественно К, Na, Са). Значительная часть кислоты существует в вине

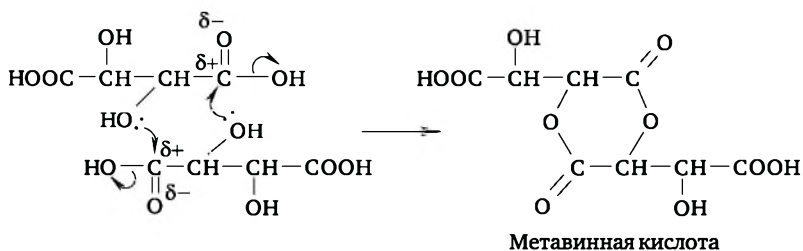
в виде кислой калиевой соли. Эта соль ограниченно растворима в воде и в вине, в связи с чем в емкостях с вином она выпадает в осадок с примесями виннокислого кальция, образуя так называемый **винный камень**. При действии на него едким натрием образуется виннокислый калий-натрий ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ).

Растворимости винного камня способствуют содержащиеся в вине аминокислоты (в частности, глицин, аспаргиновая кислота) и белковые вещества. Поэтому вина, выдержанные на дрожжах, обладают большей устойчивостью к помутнению.

Винная кислота и ее кислые соли создают кислую среду в сусле и вине (pH 2,8—3,8), что препятствует развитию ряда микроорганизмов, портящих вкус и аромат. В то же время такая среда способствует развитию полезных винных дрожжей.

Винная кислота образует комплекс с железом, который катализирует окислительно-восстановительные процессы на стадии созревания вина.

Нагревание *D*-винной кислоты при 170 °C в течение 4 ч приводит к образованию циклического сложного эфира — **метавинной кислоты**:



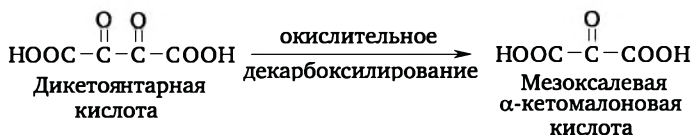
При концентрации 0,1—0,15 г/л метавинная кислота предотвращает выпадение винного камня и образование помутнений в винах. Метавинная кислота не изменяет ни вкуса, ни цвета вина. Полагают, что эта кислота адсорбируется на поверхности микрокристаллов винного камня и препятствует их росту.

Винная кислота и ее соли являются питательным субстратом для многих микроорганизмов. Этим обусловлены потери винной кислоты при хранении выжимок и другого сырья.

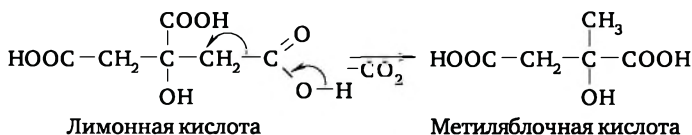
Специфическая дегидрогеназа окисляет винную кислоту в **диоксифумаровую кислоту**, ускоряющую созревание вин:



Диоксифумаровая кислота, в свою очередь, окисляется ферментом оксидазой в **дикетоянтарную** кислоту, которая декарбоксилируется с образованием **мезоксалевой** кислоты:



В заметных количествах в сусле присутствует лимонная кислота (0,2—0,5 г/л), в вине ее содержание уменьшается. Во время сбраживания сусла из лимонной кислоты в результате декарбоксилирования образуется метиляблочная кислота (60—130 мг/л):



Не исключено, что в этих условиях может протекать и характерная для оксикислот реакция отщепления муравьиной кислоты:



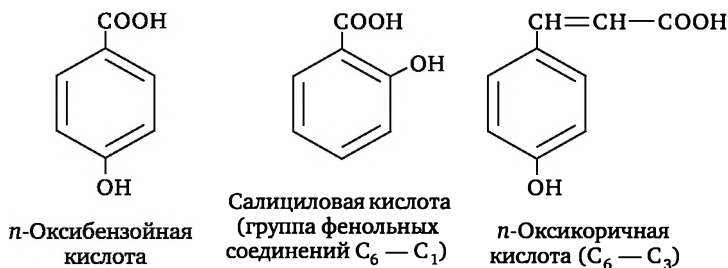
Из альдегидо- и кетокислот в винограде и вине в наибольших количествах обнаруживаются пировиноградная (15—70 мг/л), галактуроновая

( $\text{H}-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}(\text{СНОН})_4-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-\text{ОН}$ ) (до 1 г/л) и  $\alpha$ -кетоглутаровая

(до 40 мг/л) кислоты.

В винах содержится обширный ряд **ароматических** кислот: в красных — 50—100 мг/л, в белых — 1—5 мг/л. Большинство из них имеют фенольный гидроксил, что делает их антиоксидантами.

За счет фенольного гидроксила эти соединения образуют сложные и простые эфиры. Карбоксильная группа также способна образовывать ряд производных.



Подобно фенолам указанные образуют с хлорным железом окрашенные комплексы.

#### 11.1.4. Фенольные соединения

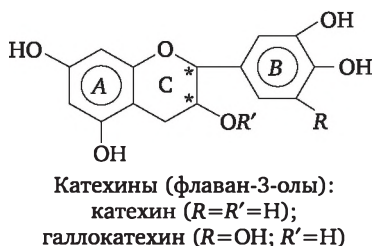
В растениях, в том числе в винограде, встречаются разнообразные фенольные соединения моно-, олиго- и полимерного характера.

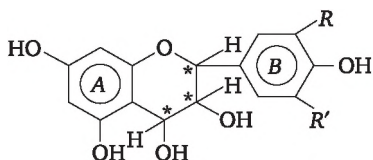
Мономерные фенольные соединения подразделяются на соединения  $C_6 - C_1$ ,  $C_6 - C_3$  и  $C_6 - C_3 - C_6$ -рядов. Большинство других фенольных соединений образуются из этих основных структур путем вторичных реакций (этерификации, метилирования, гликозирования, окисления, конденсации и др.).

Соединения  $C_6 - C_1$ -ряда состоят из фенольного ядра и одноуглеродной боковой цепи (см. представленные выше кислоты). Фенольные соединения  $C_6 - C_3$  содержат трехуглеродную боковую цепь, например производные коричной кислоты.

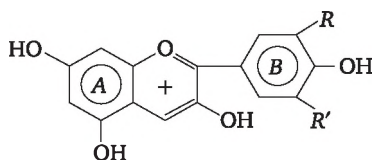
Фенольные соединения  $C_6 - C_3 - C_6$ -ряда (флавоноиды) состоят из двух ароматических ядер, соединенных между собой трехуглеродным фрагментом.

В зависимости от степени окисления или восстановления трехуглеродного фрагмента флавоноиды разделяются на **10 основных подгрупп**: катехины (1), лейкоантоцианидины (2), флаванолы (3), флаванолы (4), дигидрохалконы (5), халконы (6), аурины (7), флавоны (8), антоцианидины (9), флавонолы (10). Наиболее восстановленной подгруппой являются катехины, а наиболее окисленной — флавонолы.

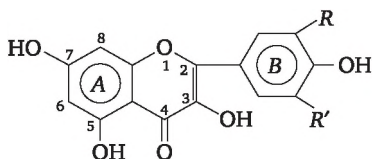




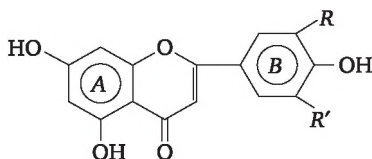
Лейкоантоцианиды  
(флаван-3,4-диолы):  
лейкопеларгонидин  $R=H$ ;  $R'=OH$   
(лейкопеларгонидол);  
лейкодельфинидин  $R=R'=OH$   
(лейкодельфинидол)



Антоцианы:  
цианидин (цианидол)  $R=H$ ;  $R'=OH$ ;  
мальвидин (мальвидол)  $R=R'=OCH_3$



Флавонолы:  
кемпферол  $R=R'=H$ ;  
кверцетин (кверцетол)  $R=OH$ ;  
 $R'=H$ ;  
мирецетин  $R=R'=OH$



Флавоны:  
апигенин (апигинол)  $R=R'=H$ ;  
лютеолин (лютеол)  $R=H$ ;  $R'=OH$

Первые четыре подгруппы (1—4) — бесцветные соединения; халконы (6), ауруны (7) и флавонолы (10) придают тканям растений желтый и оранжевый цвет; антоцианидины (9) — разнообразные оттенки красного, розового, синего и фиолетового цветов.

Большое разнообразие флавоноидов определяется наличием асимметрических углеродных атомов и способностью подвергаться реакциям гликозилирования, гидроксирования, ацилирования, метоксилирования ароматических ядер A и B.

Лейкоантоцианидины (2) и флавонолы (10) легко окисляются и подвергаются конденсации под влиянием кислот с образованием многоядерных систем — **флобафенов**.

Многие из производных соединений этого ряда находятся в растениях и винограде в виде **гликозидов**.

В отличие от большинства флавоноидов **катехины** не образуют гликозидов, но, как и лейкоантоцианидины, являются родоначальниками **дубильных веществ** конденсированного ряда.

При автоокислении и ферментативном окислении катехинов наблюдается значительное выделение углекислого газа.

Содержание катехинов в винограде составляет 1—2 г/л, в вине — 0,65 г/л.

В вино обычно переходит до 50 % катехинов ягод и гроздей. Наиболее богаты катехинами кахетинские вина. В белых винах их в 2—

5 раз меньше, чем в красных. При выдержке вина количество катехинов уменьшает вплоть до полного исчезновения.

**Антоцианы** являются красящими веществами плодов, ягод, листьев и цветов многих растений. В растительных тканях они существуют в виде гликозидов чаще всего на основе глюкозы. Агликоны этих гликозидов называются **антоцианидинами**. Некоторые антоцианидины ацилируются различными кислотами (п-оксикоричной, п-кумаровой, малоновой и др.) чаще всего по шестому углеродному атому глюкозы. Например, в винограде присутствует продукт ацилирования антоцианидинов п-кумаровой кислотой.

Антоцианы образуют в растениях комплексы с металлами, определяющих их цвет: Мо придает фиолетовую окраску, Fe — синюю, Cu — белую. На окраску влияет pH среды.

Содержание антицианов в кожце винограда составляет 3—6 % на сухую массу, а в мякоти — 0—500 мг/л.

При брожении протекают два противоположных процесса. С одной стороны, образование этанола способствует экстракции антоцианов из твердых структур, а с другой стороны — образующийся в процессе брожения ацетальдегид конденсируется с антоцианами, что вызывает их осаждение. Поэтому максимум содержания антоцианов в сусле наблюдается при содержании спирта 3—6 об. % При выдержке вина антоцианы полимеризуются с образованием осадков бурого цвета.

Антоцианы обладают Р-витаминным и сильным бактерицидным действием. Так, бактерицидное действие **мальвидина** по отношению к бактериям *E. Coli* в 33 раза сильнее, чем действие карболовой кислоты (фенола).

Некоторые антоцианы в дозах 300 мг/л замедляют жизнедеятельность винных дрожжей, в то же время другие (дельфинидин, мальвидин) стимулируют их рост.

Вследствие бактерицидных свойств антоцианов красные вина используются иногда в терапии некоторых **желудочных болезней**.

**Лейкоантоцианидины** (флаван-3,4-диолы; лейкоантоцианидолы) содержат три асимметрических углеродных атомов ( $C_2 - C_3 - C_4$ ), что обуславливает существования ряда изомеров и рацематов. Как и катехины, они не подвергаются гликозилированию, но окисляются значительно легче.

В винограде и вине обнаружены **лейкопеларгонидин** и **лейкодельфинидин**. В кожце и семенах существуют их олигомерные и полимерные формы. Свободные лейкоантоцианидины в белых выдержанных винах отсутствуют.

Конденсированные лейкоантоцианидины, относящиеся к танинам, содержатся в красных винах в концентрациях 1,5—4,5 г/л, а в белых выдержанных винах отсутствуют.



**Флавонолы** встречаются в основном в виде моно- и дигликозидов. Из сахаров в их образовании чаще всего участвуют глюкоза и рамноза. Агликоны этих гликозидов восстанавливают растворы Фелинга.

Содержание флавоноидов в темном винограде составляет 40—105 мг/л, а в красном вине — 12—55 мг/л.

Флавононы обладают сравнительно слабым бактериальным действием.

**Флавоны** встречаются в растениях в виде агликонов гликозидов.

Конденсацией от 2 до 10 молекул флавоноидов (катехинов и лейкоантоцианидинов) образуются смеси полимеров — **танины** винограда и вина. Их структура меняется в процессе выдержки вина. Молекулярная масса танинов молодых вин составляет 500—800, а выдержанных — 3000—4000.

При целенаправленном изготовлении молодых вин следует ограничивать продолжительность контакта сусла с мезгой. Это позволит избежать избыточного накопления танинов и достигнуть максимального содержания в вине антоцианов.

При изготовлении же выдержанных вин следует, наоборот, предусматривать длительное настаивание сусла на мезге, чтобы повысить содержание в нем танинов. Такие вина отличаются практически полным отсутствием антоцианов. Наиболее тяжелые фракции танинов в старых винах могут со временем выпадать в осадок.

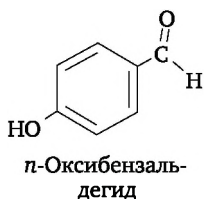
Танины играют важную роль в окраске вин. В условиях доступа кислорода они приобретают коричневую окраску, что связано, по-видимому, с окислительными процессами, ухудшающими качество вин. Антоцианы при этом не претерпевают никаких изменений.

Отметим, что танины относятся к конденсированным (негидролизуемым) дубильным веществам. Наряду с последними существуют гидролизуемые дубильные вещества, которые представляют собой полиэферы фенолкарбоновых кислот (галловой, дигалловой) и сахаров.

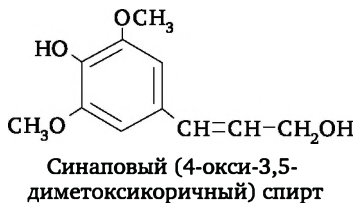
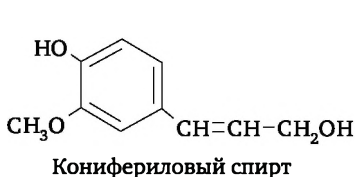
В гребнях и семенах винограда обнаружены **лигниноподобные** вещества (5—15 %). В небольших количествах они найдены в кожце ягод.

Лигнин широко представлен в опорных тканях растений (в стволе, стеблях, корнях). В значительных количествах (17—30 %) он присутствует в дубовой клетке.

По химической природе лигнин представляет собой полимер фенольной природы. В древесине он связан с углеводами  $\beta$ -гликозидными связями. При щелочном гидролизе и сопутствующем действии окислителей на основе лигнина возникает ряд ароматических альдегидов:

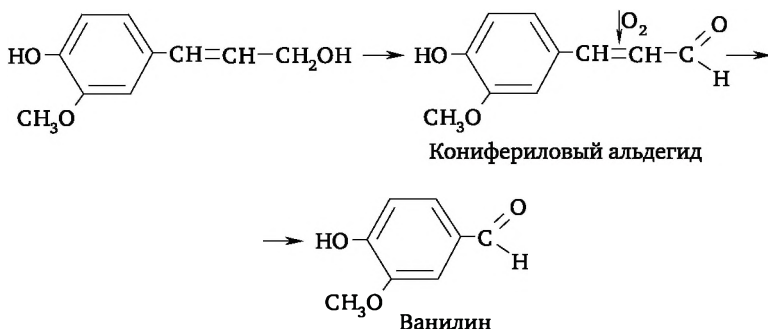


Предшественниками лигнина являются оксикоричные спирты:



Именно ароматические альдегиды, в частности ванилин и сиреневый альдегид, образуются в результате гидролиза лигнина при выдержке вин и коньячных спиртов в дубовых бочках.

Процесс распада кониферильного спирта отражает следующая схема:



**Ванилин** — душистое вещество. Пороговая концентрация ванилина по аромату в 300 раз ниже, чем у кониферильного альдегида, что способствует усилению ванильного запаха в коньячных спиртах (при крепости 62—70 %), сухих кахетинских винах, хересах и мадерах.

Суммируя представленные сведения о фенольных соединениях, следует сделать некоторые общие выводы. Соединения этого ряда участвуют в формировании органолептических качеств винограда и вина, влияя на вкус, цвет и прозрачность вина. При избытке фенольных соединений в винах появляется излишняя грубость и терп-

кость, а их недостаток лишает вино «полноты», делает его «пустым» и «жидким».

Важная роль в окраске вин принадлежит **антоцианам, флавонолам и танинам**.

Фенольные соединения участвуют в окислительно-восстановительных процессах. Те из них, которые обладают восстановительными способностями, а также способные продуцировать стабильные феноксильные радикалы подобно токоферолу (витамину E), выступают в роли **антиоксидантов**.

Фенольные производные взаимодействуют с альдегидами, белками, фосфорной кислотой и металлами, образуя продукты, выпадающие в осадок и вызывающие **помутнение** вин.

Важное значение при созревании некоторых типов крепких вин и коньячных спиртов имеют продукты гидролиза лигнина.

#### 11.1.5. Эфирные масла и сложные эфиры

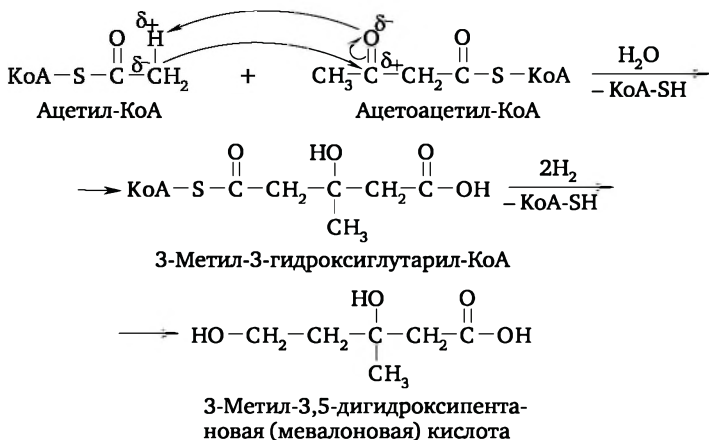
Виноград содержит эфирные масла, придающие ему своеобразный аромат. В основном они сосредоточены в кожице и во внешних слоях мякоти винограда. При переработке винограда эфирные масла переходят в сусло, а затем в вино и участвуют в формировании букета напитка.

Состав и количество эфирных масел зависит от сорта и района произрастания винограда. Так, в мускатных сортах винограда обнаружено порядка 87 различных компонентов эфирных масел. Их общая масса по данным одного источника составляла в крымских сортах винограда 58,8 мг/кг, а в армянских сортах — 44,3 мг/кг. В этих маслах обнаружены спирты алифатического ряда ( $C_2$  —  $C_{10}$ ), ароматические спирты (бензиловый,  $\beta$ -фенилэтиловый), терпеновые спирты (линалоол, гераниол,  $\alpha$ -терпинеол и др.), сложные эфиры, образованные этими спиртами и кислотами  $C_1$  —  $C_{18}$ , гликозиды, карбонильные соединения ( $C_2$  —  $C_{10}$ ), углеводороды терпенового и алкилароматического рядов.

Исследование динамики накопления летучих соединений в винограде **мускат александрийский** во время его созревания показало, что через две недели после накопления сахара в ягодах появился **линалоол**. Его содержание постоянно увеличивалось и при технической зрелости достигало 0,3 мг/л. Количество **2-гексанола** достигало 0,3 мг/л. Максимальная концентрация 2-гексанола и **гексаналя** фиксировалась через 2—4 недели после накопления сахара.

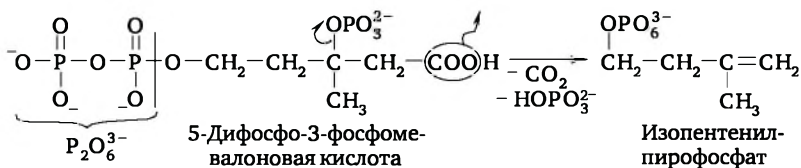
Показано, что под влиянием фермента липооксигеназы на стадии прессования винограда линолевая и линоленовая кислоты распадаются с образованием 2-гексеналя и гексаналя, которые в процессе брожения восстанавливаются в соответствующие спирты.

В биосинтезе эфирных масел участвуют продукты анаэробного распада углеводов и аминокислот. Так, уксусная и ацетоуксусная кислоты, т. е., соответственно, ацетил-KoA и ацетоацетил-KoA, являются источником **мевалоновой кислоты**, которая выступает в качестве промежуточного продукта в биосинтезе изопреноидных соединений и холестерина.

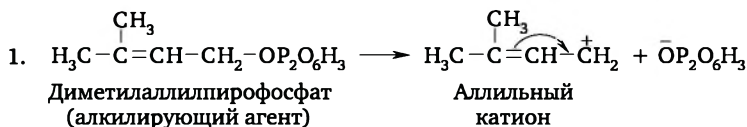


Мевалоновая кислота обладает высокой реакционной способностью и в растениях обычно не накапливается.

5-Дифосфо-3-фосфомевалоновая кислота декарбоксилируется и превращается в переносчик изопренового фрагмента — **изопентенилпирофосфат**:



Под действием изомеразы в анаэробных условиях изопентенилпирофосфат изомеризуется в диметиаллилпирофосфат, который продуцирует аллильный катион, способный алкилировать алкены. Именно эта способность обуславливает конденсацию указанных изомеров — изопентенилпирофосфата и диметиаллилпирофосфата — с образованием **геранилпирофосфата**:





Геранилпирофосфат также способен диссоциировать по связи С–О и продуцировать новый аллильный катион, обуславливая тем самым дальнейшее наращивание цепи с образованием соединений из ряда терпеноидов. В частности, атака такого катиона на молекулу изопентилпирофосфата приводит к образованию фарнезилпирофосфата — полиена, заключающего в себе три звена изопренового скелета. Геранилпирофосфат и фарнезилпирофосфат легко разлагается фосфатазами с образованием соответствующих спиртов — **гераниола** и **фарнезола**. Последний ферментативно трансформируется в углеводород **скавален** (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>) — предшественник биосинтеза стероидов (см. п. 12.1).

При брожении в заметных количествах образуются **сложные эфиры**, являющиеся важной ароматической составляющей вина. Среди эфиров превалирует этилацетат, имеющий фруктовый запах. Порог ощущения этилацетата этилацетат в вине составляет 180—200 мг/л. Большие концентрации этого эфира ухудшают качество вина.

Эфиры масляной кислоты на основе этанола и высших спиртов обладают фруктово-цветочным запахом.

В вине присутствуют также эфиры высших жирных кислот. В шампанских винах особое значение придается содержанию высококипящих эфиров: этилкапроната, этилкаприлата, изоамилкапроната и др. Из липидов образуются этиловые эфиры линолевой и других кислот.

В анаэробных условиях уровень накопления эфиров в 6 раз выше, чем в присутствии кислорода, и в 4 раза выше, чем в условиях избыточного давления CO<sub>2</sub>.

#### 11.1.6. Липиды винограда

Липиды, как и эфирные масла, оказывают влияние на органолептические качества винограда и вина. Липиды содержатся в восковом налете ягод винограда. Около 0,32 % из них входит в кожицу и 0,10 % — в мякоти ягод.

Из общего количества липидов кожицы и мякоти ягод 53—67 % составляют **гликолипиды**, 24—40 % — **нейтральные липиды** и 6,0—8,3 % — **фосфолипиды**.

Растительные липиды являются внутриклеточным источником энергии, участвуют в метаболизме компонентов структурных клеток и в окислительно-восстановительных реакциях при выработке виноматериалов.

В кожице винограда главными жирными кислотами нейтральных липидов являются стеариновая, пальмитиновая, арахидоновая; в гликолипидах превалирует линолевая и пеларгоновая; в фосфолипидах преобладают пальмитиновая, линолевая и линоленовая кислоты.

В мякоти ягод в значительном количестве присутствуют насыщенные кислоты — пальмитиновая и стеариновая.

Такие жирные кислоты, как капроновая, каприловая, энантовая, и их этиловые эфиры существенно влияют на букет вина.

## 11.2. Биохимические процессы на стадии приготовления сусла

Процесс образования вина состоит из следующих стадий: переработка винограда на прессах, ферментация сусла (сока с включением мякоти) и мезги, спиртовое брожение, формирование, созревание и старение вина (М. А. Герасимов, 1939 г.).

Уже стадия дробления и прессования винограда с последующим получением сусла до начала его брожения сопровождается интенсивным протеканием ферментативных процессов. Этот этап именуется **ферментацией сусла**. Скорость его зависит от способов дробления и прессования мезги, температурных условий выдержки сусла, активности ферментов, присутствия в среде ионов металлов (Fe, Cu) и других факторов.

На стадии разрушения растительных клеток виноградный сок и мезга насыщаются кислородом. Ягоды винограда содержат ферментативные окислительные системы. Все это обуславливает прохождение окислительных процессов. В частности, под действием о-дифенолоксидазы и пероксидазы происходит окисление катехинов в хиноны, которые катализируют дегидрирование легкоокисляющихся веществ. К таким веществам относятся, прежде всего, **аскорбиновая кислота**, содержание которой в винограде составляет 15—45 мг/кг, и **диоксифумаровая кислота**, образующаяся при окислении винной кислоты.

При выдержке сусла в аэробных условиях в течение 12 ч содержание фенольных соединений заметно уменьшается, а количество хинонов увеличивается и достигает 10 мг/л.

По сравнению с катехинами антоцианы и антоцианиды окисляются в меньшей степени.

Окисление, как известно, зачастую связано с отщеплением от **субстрата молекулы водорода**, поэтому таким превращениям легко подвергаются ароматические ядра со свободными гидроксильными группами и другие гидроксильированные молекулы.

В процессе ферментации мезги происходит ряд реакций: дезаминирование аланина и аспаргиновой кислоты, декарбоксилирование щавелевоуксусной и пировиноградной кислот, окисление аминокислот с образованием альдегидов, аммиака и углекислого газа.

При переработке винограда с целью получения **кахетинских** вин практикуется интенсификация окислительных процессов в мезге путем тщательного дробления винограда и продолжительной выдержки. Для получения же вин европейского типа и **шампанских** вин проводится быстрое прессование гроздей винограда и отделение сусла от твердой массы с последующей сульфитацией и выдержкой сусла в атмосфере  $\text{CO}_2$  или инертного газа (азота, аргона).

Важно, однако, отметить, что при продолжительном глубоком протекании окислительных процессов превращению подвергаются и полезные вещества, например терпеновые спирты, которые влияют на букет и вкус вина. С другой стороны, при быстром отделении сусла от мезги не происходит обогащения сусла эфирными маслами, в частности **терпеноидами**, от содержания которых зависит качество вина.

В технологии виноделия в настоящее время практикуется прессование винограда и выдержка сусла с мезгой в анаэробных условиях в течение нескольких часов. Происходящий при этом ферментативный гидролиз высокомолекулярных коллоидообразующих веществ улучшает сокоотделение, способствует обогащению вина экстрактивными и ароматообразующими веществами.

Наблюдается также распад гликозидов и высвобождение терпеноидных соединений, главным образом **линалоола**, **гераниола** и  **$\alpha$ -терпинеола**.

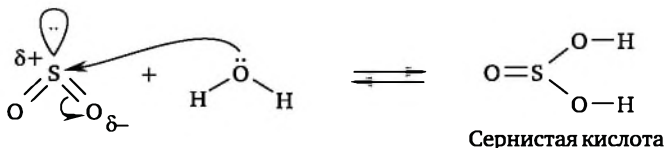
На всех этапах приготовления вина используют в качестве антисептического и антиоксидантного средства **сернистый ангидрид** (диоксид серы(IV) —  $\text{SO}_2$ ).

С давних пор сернистый ангидрид, получаемый в ряде случаев сжиганием серы прямо на месте применения, использовался как дезинфицирующее средство. Им окуривали для уничтожения грибка и многих микроорганизмов подвалы, погреба, винные бочки и бродительные чаны.  $\text{SO}_2$  находил применение также для отбеливания шерсти и шелка.

Сернистый ангидрид хорошо растворим в воде — при  $20^\circ\text{C}$  в одном объеме воды растворяется 40 объемов газа. Однако он плохо



взаимодействует с водой — равновесие соответствующей реакции сильно содвинуто влево:



Большая часть растворенного в воде газа существует в виде солей  $\text{SO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  ( $n \approx 7$ ). По первой стадии диссоциации сернистая кислота является кислотой средней силы ( $K'_a = 1,2 \cdot 10^{-2}$ ), а по второй, естественно, на несколько порядков слабее ( $K''_a = 6 \cdot 10^{-8}$ ).

Из изложенного выше следует вывод, что равновесные концентрации  $\text{H}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{HSO}_3^-$  и  $\text{SO}_3^{2-}$  в растворе  $\text{SO}_2$  очень низки.

В научной и технологической литературе под термином «свободная» сернистая кислота подразумевает сумму  $\text{SO}_2$  и всех его производных:  $\text{H}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{HSO}_3^-$  и  $\text{SO}_3^{2-}$ , соотношение которых зависит от pH и температуры среды. При этом постулируется, что в растворе обычно обнаруживаются следовые количества  $\text{SO}_2$ , недиссоциированная  $\text{H}_2\text{SO}_3$  (3—5 %), анион  $\text{HSO}_3^-$  (94—96 %) и анион  $\text{SO}_3^{2-}$  (до 1 %), что не согласуется с представленными выше данными о поведении  $\text{SO}_2$  в водном растворе.

Простой расчет концентрации  $[\text{HSO}_3^-]$  при гипотетической исходной концентрации  $[\text{H}_2\text{SO}_3] = 1$  ммоль/л (82 мг/л) и  $K'_a = 10^{-2}$  показывает следующие результаты.

Если диссоциации подвергается  $x$  ммоль/л  $\text{H}_2\text{SO}_3$ , то  $[\text{HSO}_3^-] = [\text{H}^+] = x$ .

$$K_a = \frac{[\text{HSO}_3^-] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{H}_2\text{SO}_3]}, \quad \frac{x^2}{1-x} \approx 10^{-2};$$

$$x^2 + 10^{-2}x - 10^{-2} = 0.$$

Поскольку  $10^{-2}x$  очень маленькая величина, то  $x^2 \approx 10^{-2}$ ;  $x = 0,1$  ммоль/л.

Решение квадратного уравнения дает  $x = 0,095$ .

Таким образом, формально диссоциации подвергается 10 %  $[\text{H}_2\text{SO}_3]$ . Следует, однако, помнить то, что реально  $[\text{H}_2\text{SO}_3] \ll [\text{SO}_2]$ , т. е. равновесная концентрация аниона  $[\text{HSO}_3^-]$  будет значительно ниже. В этой связи весьма сомнительным представляется утверждение о том, что антисептическое действие  $\text{SO}_2$  обусловлено в основном молекулярной формой  $\text{H}_2\text{SO}_3$ , в меньшей степени —  $\text{SO}_3^{2-}$  и  $\text{HSO}_3^-$ .

Антисептическое действие сернистой кислоты против культурных дрожжей вида *Sacch. vini* значительно слабее, чем против диких дрожжей и бактерий, поэтому она непригодна для стабилизации полусладких и сладких десертных вин. Для торможения бро-



жения здесь необходимы высокие концентрации сернистой кислоты (450— 500 мг/л), которые для человеческого организма вредны.

Наиболее чувствительны к сернистой кислоте уксуснокислые и молочнокислые бактерии, малоустойчивы к действию антисептика плесени, а также *Sacch. Apiculatus*, микодерма и другие дикие дрожжи.

*Sacch. vini* выдерживает действие  $\text{H}_2\text{SO}_3$  при концентрации от 170 до 200 мг/л, а *Sacch. torula* — до 400 мг/л.

Сернистая кислота как восстановитель ингибирует действие оксидаз, в частности *o*-дифенолоксидазы, в этом заключается ее роль в качестве антиоксиданта. Кроме того, она потребляет растворенный кислород, окисляясь в серную кислоту. Этот процесс катализируют тяжелые металлы, в частности ионы железа.

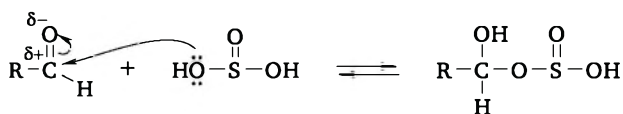
Поэтому удаление железа из виноматериала желтой кровяной солью (ферроцианидом калия,  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) способствует сохранению сернистой кислоты в вине.

Итак, технологическое значение сернистой кислоты состоит в том, что под ее влиянием практически вся микрофлора сусла погибает и его брожение осуществляется на чистой культуре дрожжей.

Кроме антисептического и антиоксидантного действия сернистая кислота способствует осветлению сусла за счет коагуляции отрицательно заряженных коллоидов, связывает уксусный ангидрид и диацетил, которые портят вкус и букет вина.

Кроме представленных выше «свободных» форм, сернистая кислота существует в виноматериалах в **связанных** формах. В частности, она способна реагировать с ацетальдегидом, сахарами, высшими альдегидами, кетокислотами, фенольными и другими веществами.

Например, альдегиды образуют довольно прочные ( $K_{\text{дисс.}} = 2,4 \cdot 10^{-6}$ ) альдегидсернистые кислоты



Образование таких кислот характерно для сухих вин и бродящих сусел.

В суслах, в десертных и полусладких винах  $\text{SO}_2$  образует соединения с **сахарами**. Наиболее прочные аддукты образует арабиноза. Глюкоза связывается в 10 раз слабее, а фруктоза и сахароза не связывается.

$\text{SO}_2$  довольно легко связывается с белками, серосодержащими аминокислотами, например с цистеином, кетокислотами и с антоцианами. Последние при этом обесцвечиваются.

Некоторые виды дрожжей способны продуцировать сернистую кислоту на основе сульфатов или элементарной серы, которой опрыскивают виноград. Винные дрожжи, наоборот, в облигатно-анаэробных условиях способны восстанавливать сернистую кислоту до элементарной серы и сероводорода.

Сернистая кислота и ее производные при превышении определенной дозы потребления (20—30 мг в день) оказывают вредное влияние на организм человека. Изучаются возможности полной или частичной ее замены. В качестве таких заменителей рассматривались сорбиновая, аскорбиновая кислоты и диэтиловый эфир угольной кислоты.

200 мг/л сорбиновой кислоты оказывает такое же ингибирующее влияние на процесс брожения, как 300 мг/л сернистой кислоты.

Еще более эффективна натриевая соль 5-нитрофурилакриловой кислоты (Na-5НФА). Обычно ее применяют в концентрации 5—10 мг/л.

### 11.3. Дрожжевое брожение виноградного сусла

Виноделие является биотехнологическим производством, связанным с жизнедеятельностью **дрожжей**, в основе которой лежат биохимические превращения углеводов (сахаров) и продуктов их первичного метаболизма.

#### 11.3.1. Дрожжи

Дрожжи являются одноклеточными организмами группы **эукариот**, обладающих, в отличие от бактерий (**прокариот**), ядром.

Основной единицей в классификации дрожжей является **раса** (**штамм**). Это чистая культура, выделенная из одной клетки. Расы объединяются в **виды** (*species*), виды — в **роды** (*genus, genera*), а роды — в **семейства**.

По сравнению с другими микроорганизмами дрожжи являются довольно крупными формами (длина — 1—10 мкм; диаметр — 1—8 мкм).

Большая поверхность клеток определяет интенсивность их метаболизма и процесса обмена веществ с окружающей средой. Масса дрожжевых клеток в 500 кг способна за сутки синтезировать 50 т белка, в то время как животное с равнозначной массой может произвести всего 0,5 кг.

Дрожжевая клетка имеет то же строение, что и клетки животных и растений — в коллоидном растворе цитоплазмы располагаются **органеллы**: ядро, хромосомы, митохондрии, вакуоли, аппарат Гольджи.

Наряду с органеллами в цитоплазме имеются **эндоплазматический ретикулум** (эндоплазматическая сеть) и **включения**, т. е. временные образования углеводной и липоидной природы.

Между внутренней поверхностью клеточной стенки и внешней поверхностью цитоплазматической мембраны находится ряд ферментов. В основном это гидролитические ферменты, в том числе  $\beta$ -фруктофуранозидаза (инвертаза) и кислая фосфатаза.

В химический состав клеточной стенки (оболочки) входят белково-полисахаридные комплексы, фосфаты и липиды.

Цитоплазматическая мембрана осуществляет несколько функций: действует как осмотический барьер, регулирует транспорт питательных веществ в клетку и удаление из клетки продуктов обмена, локализует на себе некоторые ферменты и рибосомы, выполняет биосинтез некоторых компонентов клеточной стенки.

Перенос в клетку необходимых для ее жизнеобеспечения веществ осуществляют с затратой энергии находящиеся на мембране белки-переносчики — **пермеазы**. Некоторые вещества проникают в клетку за счет самопроизвольной диффузии без затрат энергии.

Сбраживание сахаров дрожжами тесно связано с размножением и ростом клеток дрожжей. Поэтому они нуждаются в питании. Углеродное питание обеспечивают углеводы, органические кислоты, в ряде случаев  $\text{CO}_2$  и углеводороды. Большинство видов винных дрожжей сбраживают глюкозу, фруктозу, мальтозу, сахарозу и галактозу; рафинозу используют частично, а лактозу, мелибиозу, пентозы, декстрины и крахмал совсем не сбраживают.

Углеводородно-окисляющие дрожжи рода *Candida* могут активно потреблять парафины, что используется в технологии производства кормового белка.

Азотное питание связано с ассимиляцией аммонийных солей неорганических ( $\text{H}_2\text{CO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) и органических кислот, аминокислот и мочевины. Большинство дрожжей не усваивают нитраты.

Для питания дрожжей необходимы также неорганические элементы: фосфор, сера, калий, кальций и др. Рост бактерий стимулируют витамины, особенно витамины группы В, аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания.

Виноградное сусло в отличие от пивного, сбраживаемого на селекционированных дрожжах, часто сбраживается самопроизвольно (спонтанно). В свежееотжатом сусле присутствуют представители разных групп микроорганизмов, попадающие в него с поверхности ягод и гребней при переработке винограда. Большую часть микрофлоры составляют **мицелиальные грибы** (76—90 %), **дрожжи** (9—22 %) и значительно меньшую часть — **неспоровые и споровые бактерии**, актиномицеты и микобактерии.

Высокая кислотность виноградного сока (рН 2,7—3,8) создает неблагоприятные условия для жизнедеятельности большинства групп

микроорганизмов, и поэтому в сусле они обычно не размножаются. Наиболее кислотовыносливыми являются дрожжи и мицелиальные грибы. Обедненное кислородом сусло и накопленный спирт подавляют развитие мицелиальных грибов, но для жизнедеятельности дрожжей условия остаются благоприятными.

Среди различных семейств, родов и видов дрожжей существуют сложные конкурентные взаимоотношения, поэтому в процессе спонтанного брожения виноградного сусла постоянно меняется состав активной дрожжевой флоры.

К концу брожения жизнедеятельными остаются только спиртовыносливые виды дрожжей. Однако продукты обмена всех дрожжей, участвующих в брожении, оказывают влияние на качество вина.

В начале брожения в сусле доминируют **апикулятусы**, составляющие 90—95 % всей микрофлоры. После накопления в бродящем сусле 2—4 об. % спирта апикулятусы прекращают свою жизнедеятельность, а винные дрожжи — **сахаромицеты** — продолжают размножаться и доводят брожение до конца.

Дрожжевая флора винограда в различных регионах Земли чрезвычайно разнообразна, но даже флора сусел одного и того же района неодинакова.

Большинство дрожжей, применяемых в бродильной промышленности для получения вина, принадлежит к роду *Saccharomyces* *Meuyn*, включающему 18 видов. Они хорошо сбраживают растворы сахаров и накапливают этанол до 18 об. %.

В виноградном соке хорошо развиваются чистые культуры *S. Oviformis*, сбраживая почти полностью содержащиеся в нем сахара и образуя около 18 % спирта. К этому виду принадлежат дрожжи **шампанского** производства.

Технология игристых вин, связанная со сложными биохимическими процессами, требует правильного выбора чистых культур дрожжей и режимов их культивирования. При производстве шампанского дрожжи находятся в более жестких условиях, чем при сбраживании виноградного сусла. Они начинают размножаться в вине при относительно низких температурах (10—12 °C) при объемной доле спирта 10—12 % и содержании сернистой кислоты 80—120 мг/дм<sup>3</sup>. Процесс развивается при pH 3,1—2,9 и требует применения кислотовыносливых рас дрожжей.

Понижение температуры в процессе шампанзации способствует насыщению вина углекислым газом и формированию высококачественных органолептических свойств. Давление CO<sub>2</sub> достигает 5—6 кг/см<sup>2</sup> (5 бар), для чего нужно сбродить 20—24 г/л сахарозы. При давлении 7 кг/см<sup>2</sup> брожение уже невозможно.

Давление CO<sub>2</sub> оказывает сильное ингибирующее действие на рост дрожжей и замедляет скорость сбраживания. Накопление

в бродящем сусле спирта также тормозит размножение дрожжей, и при достижении его концентрации порядка 12 % размножение прекращается.

Для насыщения напитков углекислым газом в ряде случаев используют процесс **яблочного-молочного брожения**.

В производстве **хересных** вин используют разновидности дрожжей *S. Oviformis*, способные образовывать на поверхности вина пленку. На первом этапе они вызывают брожение сахаров с накоплением спирта до концентрации 17,6 %. По окончании брожения в общей массе дрожжи продолжают развиваться на поверхности вина в виде пленки. При этом осуществляется окисление спирта в ацетальдегид (до 700 мг/л), сопровождающееся накоплением ацеталей и летучих эфиров, в результате чего вино приобретает хересный тон. Процесс протекает при 18—20 °С в условиях доступа кислорода воздуха.

Наиболее распространенным видом дрожжей для сбраживания **соков плодов и ягод** является *Saccharomyces vini Meyen*, а при производстве спирта в **пивоварении** и в **хлебопекарной** промышленности применяют *Saccharomyces cerevisiae Meyen* (*S. cerevisiae*).

Дрожжевая флора плодово-ягодных сусел и вин идентична микрофлоре виноградных виноматериалов: в начале самопроизвольного процесса брожения преобладают апикулятусы, а затем дрожжи-сахаромицеты. Главное различие этих бродильных систем заключается в том, что в плодово-ягодных соках часто размножаются дрожжи *Schizosaccharomyces acidodevoratus*, которые разлагают яблочную кислоту и вызывают нежелательный процесс кислотоснижения.

Дрожжи рода *Pichia* вызывают заболевание столовых вин («цвель») и помутнение вин, разлитых в бутылки. Порчу вин вызывают также **мицелиальные** (плесневые) грибы. К ним относят микроскопические грибы-сапрофиты, питающиеся веществами отмерших растительных остатков и образующие на их поверхности налеты. В вине мицелиальные грибы не размножаются, но вино, налитое в тару со следовыми количествами и запахом плесени, становится испорченным.

В виноделии нашли применение некоторые ферментные препараты, продуцируемые грибами рода *Aspergillus*, с целью интенсификации биохимических процессов при созревании вин.

### 11.3.2. Биохимия дрожжевого брожения.

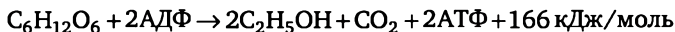
#### Энергетика обмена веществ. Вторичные продукты брожения

Основную роль в обмене веществ дрожжевой клетки играют **анаэробный** и **аэробный** распад углеводов. Химизм этих процессов детально рассмотрен в гл. 6. Важно установить соотношение вкладов этих процессов в дрожжах в зависимости от их вида и условий функционирования. У одних видов доминирует бродильный метаболизм,

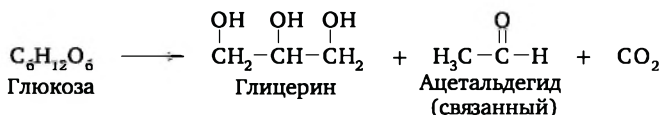
у других же, обогащенных дыхательными ферментами, существенно возрастает вклад аэробного механизма.

При сравнении бродильных свойств рас винных (*S. vini*) **спиртовых** (*S. cerevisiae*) и **пивоваренных** (*S. carlsbergensis*) дрожжей установлено, что винные дрожжи наряду с большей спиртоустойчивостью и способностью сбраживать более высокие концентрации сахаров, нуждаются в относительно большем доступе воздуха. Причем, в ряду видов дрожжей, используемых в виноделии, дрожжи *S. vini* обладают наиболее высокой степенью анаэробиза.

Возвращаясь к механизму процесса брожения глюкозы, следует выделить **три его формы**, предложенные К. Нейбергом. **Первая** форма представляет собой рассмотренное выше (см. подп. 6.2.7) спиртовое брожение, суммарное уравнение которого представляется в следующем виде:

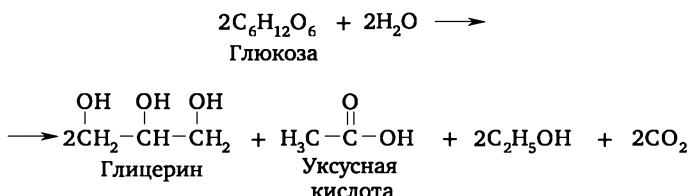


**Вторая форма** брожения по Нейбергу отражает процесс получения глицерина, если в сбраживаемую среду вводить натрийгидросульфит, который связывает альдегид ( $\text{CH}_3\text{CH}(\text{ОН})\text{SO}_3\text{Na}$ ) и тем самым предотвращает его восстановление в спирт. В этих условиях действие  $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ , образующегося на предшествующей стадии окисления глицеринового альдегида в кислоту, направлено на другую молекулу того же альдегида, в результате чего образуется глицерин:



При брожении сульфитированного виноградного сусла в вино-материалах также происходит накопление глицерина и уксусного альдегида в виде натрийгидросульфитного аддукта.

**Третья форма** брожения по Нейбергу связана с осуществлением процесса в щелочной среде. В этих условиях наряду с образованием глицерина происходит окисление ацетальдегида  $\text{НАД}$ -зависимой дегидрогеназой в уксусную кислоту, а образовавшийся при этом  $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$  восстанавливает эквивалентное количество ацетальдегида в этиловый спирт:

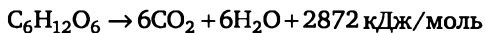




Такой химизм процесса благоприятен для клеток, поскольку образующаяся уксусная кислота понижает pH среды и способствует возобновлению нормального спиртового брожения.

Иногда в клетках дрожжей возникает необходимость в использовании запасного полисахарида — гликогена.

В присутствии кислорода воздуха дрожжи получают энергию за счет аэробного дыхания:



Однако энергии, освобождаемой в результате полного катаболизма глюкозы с учетом окислительных процессов ЦТК (цикла Кребса) и дыхательной цепи, оказывается недостаточной для функционирования дрожжей. В качестве источников энергии используются и другие питательные вещества (жиры, белки), способные продуцировать пировиноградную кислоту, которая, в свою очередь, трансформируется в ацетил-КоА.

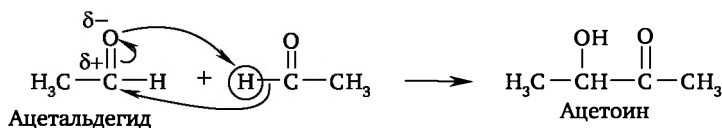
Катаболизм питательных веществ является не только источником энергии, но и поставщиком материала для ресинтеза функциональных биомолекул и конструирования структур клетки.

В процессе брожения сахара наряду с этанолом образуется ряд других соединений, которые называются **вторичными продуктами**. По данным одной из работ, при сбраживании 180 г сахара образовалось 87,4 г этанола, 83,6 г углекислоты, 6 г глицерина, 0,8 г янтарной кислоты, 0,5 г 2,3-бутандиола, 0,4 г сивушных спиртов, 0,3 г молочной кислоты и 0,1 г уксусного альдегида.

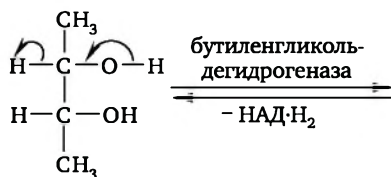
Отмечается образование и других продуктов, таких как уксусная кислота, пировиноградная кислота, ацетон, диацетил, высшие спирты, сложные эфиры, лимонная кислота и др. Эти компоненты играют важную роль в формировании вкусовых качеств вина.

Образование глицерина можно объяснить по второй формуле К. Нейберга, согласно которой молекула глюкозы распадается на глицерин и пировиноградную кислоту. Уксусный альдегид является продуктом декарбоксилирования пировиноградной кислоты.

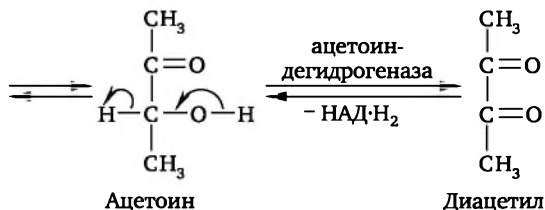
В результате ацетоиновой конденсации двух молекул уксусного альдегида образуется **ацетоин**:



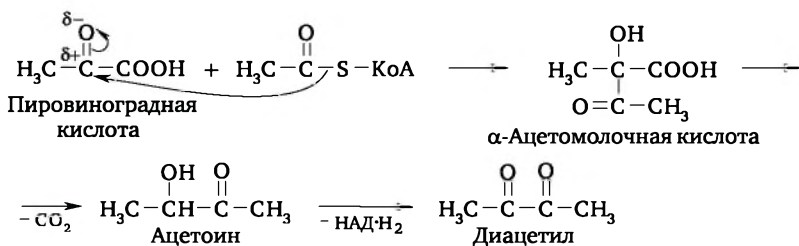
Ацетоин в биологических средах выступает в качестве промежуточного звена окислительно-восстановительной системы:



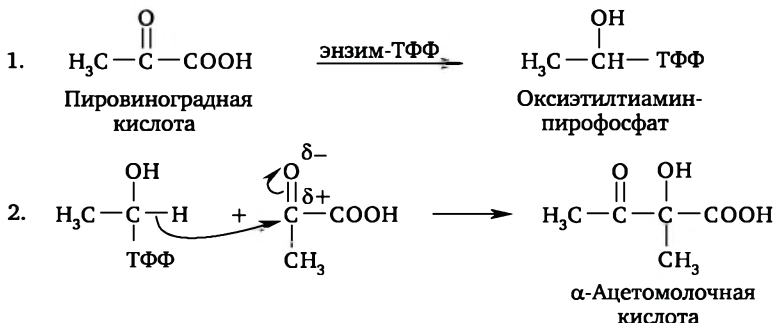
2,3-Бутандиол



Полагают, что ацетоин и диацетил могут образовываться из  $\alpha$ -ацетомолочной кислоты, которая, в свою очередь, образуется на основе пировиноградной кислоты.

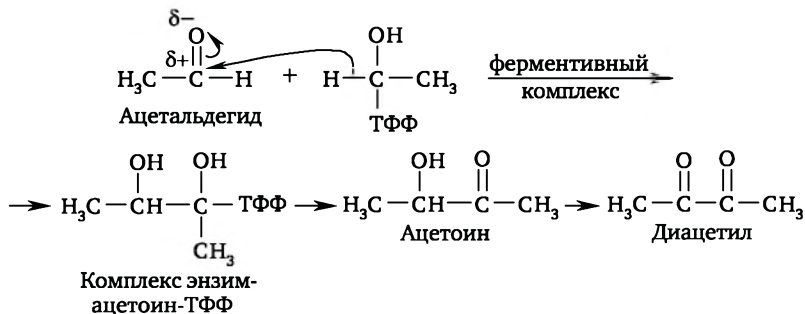


Существуют и другие версии биосинтеза  $\alpha$ -ацетоуксусной кислоты, в частности конденсации пировиноградной кислоты с оксипропионаминпирофосфатом. Источником последнего также является пировиноградная кислота.





В других работах указывается, что дрожжи могут осуществлять биосинтез диацетила и ацетоина, не связанный с образованием ацетомолочной кислоты.



Подобно взаимопревращениям в цепочке 2,3-бутандиола и продуктов его последовательного окисления в винах существует окислительно-восстановительная система соединений с 5-углеродными молекулами:



Отмечается общая закономерность, из которой следует, что в аэробных условиях в вине повышается содержание окисленных форм — оксосоединений. Показано, однако, что чем больше в винах содержание 2,3-бутандиона (диацетила) и 2,3-пентандиона, тем хуже их дегустационная оценка.

В винах, подвергшихся яблочно-молочному брожению, количество 2,3-бутандиона значительно увеличивается и достигает 2,8—4,3 мг/л.

Примечательно, что содержание **диацетила** в белых (0,8—0,9 мг/л) и красных (1,8 мг/л) винах придает напитку окисленный тон, а при концентрации выше 2 мг/л — мышинный привкус.

Выдержка вин в анаэробных условиях предотвращает и окисление этанола в уксусную кислоту.

Весьма нежелательным процессом при формировании вина является образование высших (**сивушных**) спиртов (300—350 мг/л). Установлено, что чем интенсивнее рост и размножение дрожжей,

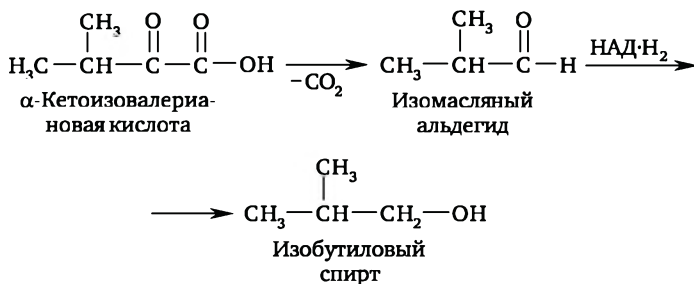
тем больше образуется высших спиртов. Оптимальной температурой для их образования является 20—25 °С. Примечательно, однако, что влияние температуры на выход сивушных спиртов зависит от вида и расы дрожжей.

На количество образовавшихся высших спиртов влияют концентрация сахара, состав и pH среды, а также интенсивности аэрации. Так, дрожжи *Sacch. vini* в анаэробных условиях образуют больше изобутилового и изопентилового спиртов, чем в аэробных. В то время как *Sacch. oviformis* в аэробных условиях синтезируют больше изопентилового спирта и пентанола, чем при анаэробизе.

Брожение под давлением CO<sub>2</sub> позволяет получать вина высокого качества с низким редокс-потенциалом, малым содержанием кислот и высших спиртов с сохранением фруктовых тонов в аромате.

Существует два источника образования сивушных спиртов: **сахара** и **аминокислоты**. В основном эти спирты возникают из сахаров. Отмечено, что с увеличением концентрации аминокислот общее содержание сивушных спиртов уменьшается за счет уменьшения концентрации пентиловых спиртов, в то время как содержание изобутилового спирта существенно возрастает.

Из производных глюкозы важную роль в накоплении высших спиртов играет пировиноградная кислота. Конденсируясь с уксусным альдегидом или ацетил-КоА, она превращается, как показано выше, в ацетилмолочную кислоту. Последняя продуцирует α-кетоиизовалериановую кислоту, которая восстанавливается в изобутиловый спирт.



α-Кетоиизовалериановая кислота может наращивать углеродную цепь за счет взаимодействия с ацетил-КоА. Образующаяся при этом α-кетоиизокапрооновая кислота декарбоксилируется и далее восстанавливается в изопентиловый (изоамиловый) спирт (CH<sub>3</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH). Изобутиловый и изоамиловый спирты

составляют 90 % всех спиртов вина и отрицательно влияют на его вкус.

Аналогичные превращения происходят с неразветвленными кислотами: кетомасляной и кетовалериановой, в результате чего образуются *n*-бутиловый и *n*-пентиловый спирты.

Существует несколько путей получения спиртов из аминокислот. Первая из них связана с декарбоксилированием и образованием амина, аминогруппа которого замещается на гидроксил в процессе дезаминирования. Второй путь предполагает окислительное дезаминирование аминокислоты. Образующаяся при этом кетокислота декарбоксилируется в альдегид и далее восстанавливается в спирт. Третья схема связана с классическим переаминированием, в ходе которого аминокислота превращается в кетокислоту, судьба которой нам уже известна.

Приятным ароматом обладают некоторые синтезируемые на основе аминокислот спирты алкилароматического строения, такие как  **$\beta$ -фенилэтиловый**, **тирозол**, **тринтофол**. Регулируя содержание аминокислоты фенилаланина, можно получить вино с различной концентрацией  $\beta$ -фенилэтилового спирта.

Введение в бродящее сусло избытка аминокислот:  $\alpha$ -аланина,  $\alpha$ -аминомасляной кислоты, лейцина или валина — способствует накоплению не только спиртов соответствующего аминокислотам строения, но и ряда других высших спиртов.

Введение аммонийных солей в среду, обедненную по содержанию азота, снижает образование высших спиртов в 1,4—1,7 раза.

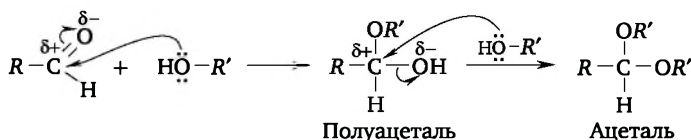
При брожении в заметных количествах образуются **сложные эфиры**, которые считаются важнейшей ароматической составляющей вин (см. подп. 11.1.5).

Среди эфиров превалирует, как уже отмечалось, этилацетат, имеющий **фруктовый запах**. Эфиры высших спиртов обладают фруктово-цветочным запахом. Сравнительно в больших количествах при брожении образуются моно- и диэтиловые **эфиры винной, яблочной и янтарной кислот**. Яблочно-молочное брожение сопряжено с накоплением в вине этиллактата.

В шампанских винах особое значение придается содержанию высококипящих эфиров — этилкапроната, изоамилкапроната и др.

Из липидов в результате переэтерификации образуются этиловые эфиры линолевой, линоленовой и других кислот.

В продуктах брожения винограда обнаруживаются **ацетали**, именуемые в ряде случаев в литературе **простыми эфирами**:



Ацетали могут образовываться при взаимодействии альдегидов с полифенолами и другими гидроксилсодержащими соединениями.

В значительных количествах ацетали образуются в коньяках и в хересе, содержащем много альдегидов. В частности, в хересе помимо этилацетала были найдены этилизоамилацеталь, диамилацеталь, изоамилфенилацеталь и др.

Дрожжи могут выделять в среду в процессе брожения сульфидрильные соединения, т. е. соединения, содержащие группу SH. Наиболее активным продуцентом SH-соединений являются шампанские дрожжи; меньше их выделяют дрожжи пивоварения.

К таким соединениям следует отнести прежде всего **глутатион** и **цистеин**, снижающие редокс-потенциал системы. Группа SH, как и  $H_2S$ , обладает восстановительными свойствами, поэтому SH-содержащие соединения, именуемые **редуктонами**, выполняют в вине роль антиоксидантов, препятствующих окислительной деградации полезных компонентов и, в первую очередь, окислению некоторых ароматических составляющих. В виноматериалах, полученных путем сбраживания виноградного сусла под давлением  $CO_2$ , запас сульфидрильных соединений значительно выше.

Отметим, что к числу антиоксидантов относятся фенольные соединения. Однако фенольные кислоты и альдегиды ингибируют рост и размножение дрожжей. **Антоцианы** в количестве 300 мг/л и выше замедляют жизнедеятельность винных и даже пленчатых дрожжей. Фенольные соединения сусла и вина вступают в реакцию с белками и в виде танатов выпадают в осадок. Продукты окисления фенольных соединений — **хиноны** — взаимодействуют с аминокислотами.

В результате окислительного **дезаминирования** образуются кетокислоты, декарбоксилирование которых дает альдегиды, существенно влияющие на вкус вина.

Созревание вин (прежде всего, шампанского), обогащение их биологически активными соединениями и формирование букета напитков связаны с продуктами **автолиза дрожжей**, т. е. разложения компонентов клетки под действием своих же гидролитических ферментов.

На основе сведений об автолитических процессах в клетках дрожжей разработаны методы применения искусственно созданных концентратов для повышения качества вин.

Условия производства вин зачастую далеки от стерильных. Даже после дезинфекции сборников и трубопроводов 0,5%-ным раствором **катапина** (четвертичного аммониевого соединения) часть дрожжей может остаться живой.

Дрожжи являются основной причиной биологического помутнения столовых вин, разлитых в бутылки.

Красные, реже белые вина поражаются спорообразующей палочкой *Bact. amarae* — возбудителем горечи. Прогоркание связано с превращениями глицерина. Как уже отмечалось, он может

превращаться бактериями в акролеин ( $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{C}\begin{smallmatrix} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{H} \end{smallmatrix}$ ), который к тому же способен вступать в химическое взаимодействие с полифенолами. Вино при этом мутнеет, появляются горечь и запах летучих кислот.

## 11.4. Бактериальные виды брожения

Виноградные ягоды ко времени созревания заселяются не только дрожжами, но и различными видами бактерий. Однако развитие бактерий в сусле и вине сильно подавляется в связи с высокой кислотностью и осмотическим давлением сахаров. Действие осмотического давления обусловлено тем, что высокая концентрация сахаров в сусле способствует обезвоживанию клеток бактерий.

Бактерицидное действие вина усиливается с повышением концентрации спирта и pH среды. Бактерии туберкулеза, тифа, холерные вибрионы и кишечная палочка погибают в нем, причем в белом вине гораздо быстрее (за 15—20 мин.), чем в красном (2—4 ч).

В вине могут развиваться только бактерии, выдерживающие pH 2,5—4,5 и концентрацию спирта 12—18 %. К ним относятся некоторые виды молочнокислых бактерий, вызывающих **молочно-кислое, яблочное-молочное и маннитное брожение**, а также отдельные штаммы уксуснокислых бактерий.

Бактерии вина могут вызывать заболевания, искажающие вкус и букет напитка. Общеизвестна способность молочнокислых бактерий вызывать скисание многих сахаристых продуктов (молока, соков, пива и др.).

### 11.4.1. Молочнокислые бактерии

Бактерии этого типа относятся к группе прокариотов, имеют формы **палочек** (0,5—8,0 мкм) или **кокков** (0,5—1,0 мкм), размеры которых зависят от состава среды и условий культивирования.

Бактерия ограничена клеточной **стенкой**, состоящей из сахаров, аминокислот и липидов. Стенка действует как фильтр, пропускающий воду, соли и метаболиты. Сразу за стенкой следует **клеточная, или цитоплазматическая мембрана**. На ней локализуются почти все цитохромы и ряд ферментов, в частности дегидрогеназы.

**Бактериальная цитоплазма** (pH = 7) содержит одни вещества в растворенном виде, а другие, например белки, в коллоидном состоянии. В цитоплазме находятся рибосомы и ядерная структура (нуклеотид) — аналог ДНК. Ядерная оболочка отсутствует.

Размножаются молочнокислые бактерии простым делением. На поверхности желатиновых и агар-агаровых сред они образуют

колонии. Характерным признаком этих бактерий является отсутствие каталазы, однако в них имеются **протеазы**, разрушающие пептиды, и **липазы**, гидролизующие жиры.

Питаются бактерии соединениями тех же классов, что и дрожжи: моно- и дисахаридами, аминокислотами, ненасыщенными жирными кислотами, витаминами, неорганическими соединениями (Mn, Fe, Cu, Na, K, P, S и др.). Отношение видов молочнокислых бактерий к аэрации различно и в ряде случаев противоположно. Они не обладают цитохромами, участвующих в дыхании, но обладают **флавопротеидными** системами, способными окислять некоторые вещества. Процесс окисления у молочнокислых бактерий часто связан с образованием пероксида водорода.

Многие штаммы **молчнокислых** палочковидных бактерий развиваются при содержании спирта в среде 15—18 %, в ряде случаев — до 24 %. Для **кокковых** форм бактерий предельные концентрации спирта составляют 12—16 %.

Молчнокислые бактерии делятся на **гомоферментативные** (*L. plantarum*, *L. casei* и др.) и **гетероферментативные** (палочки — *L. Buchneri*, *L. Brevis.*, *L. hilgardii*; кокки — *Leuconostos mesenteroides*, *Leuc. Citrovorum*, *Leuc. vini*, *Leuc. gracile* и др.).

Деление это, однако, по мнению ряда специалистов, весьма относительно, так как в зависимости от условий характер конечных продуктов брожения может существенно изменяться.

#### 11.4.2. Молчнокислое брожение (МКБ)

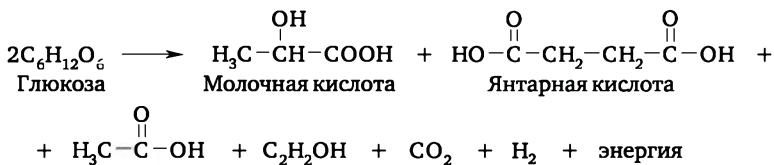
Молчнокислому брожению подвергаются все типы вин: сухие столовые, полусладкие, десертные и в особенности крепкие, а также яблочные вина.

Типичные **гомоферментативные** бактерии превращают около 95 % глюкозы в молчную кислоту обычным путем гликолиза:



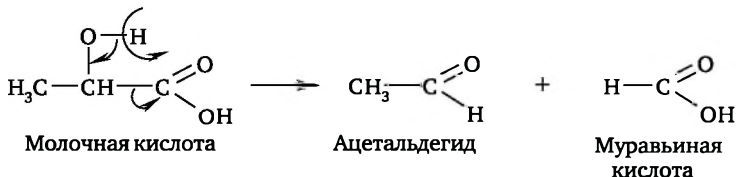
Образующаяся в процессе гликолиза пировиноградная кислота из-за отсутствия карбоксилазы не декарбоксилируется, а восстанавливается лактодегидрогеназой в молчную кислоту. Обычно при этом образуется смесь *D*(-)- и *L*(+)-молчной кислоты, хотя некоторые гомоферментные бактерии продуцируют исключительно *L*(+)-изомер.

**Гетероферментативное** молчнокислое брожение выражается общей схемой:



Пировиноградная кислота частично декарбоксилируется с образованием уксусного альдегида.

В результате превращений уксусного альдегида и пировиноградной кислоты образуются **янтарная** и **уксусная** кислоты. Имеются данные о накоплении в процессе гетероферментативного брожения следующих продуктов: молочной кислоты — 40 % (в расчете на включенный в процесс сахар); янтарной кислоты — около 20 %; этанола — 10 %; уксусной кислоты — 10 %; газов — около 20 %. Такого типа брожение имеет место в крепких, десертных и столовых недобродивших винах. Характерным признаком молочнокислых бактерий является накопление в вине **летучих** кислот: уксусной, пропионовой и муравьиной. Последняя может образовываться в результате хорошо известной реакции расщепления оксикислот. Например,



Уксусная кислота образуется при разложении МК бактериями имеющихся в виноградном соке пентоз — арабинозы и ксилозы. Низшие кислоты образуются как в условиях гетероферментативного разложения сахаров, так и при разложении винной кислоты и глицерина.

Вызываемое МК бактериями заболевание **турн**, свойственное прежде всего для красных вин с низким содержанием фенольных и гидроароматических веществ, обусловлено именно метаболизмом винной кислоты и глицерина.

Глицерин может также продуцировать под действием некоторых бактерий остропахнущее соединение — **акролеин** ( $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H} \end{smallmatrix}$ ). Последний, в свою очередь, реагирует с полифенолами, в особенности с дубильными веществами типа эпикатехина, вызывая прогоркание вина.

Молочнокислые бактерии, развиваясь в низкокислотных винах, вызывают заболевание, связанное с потреблением ими наряду



с глицерином яблочной и лимонной кислот. Вино становится мутным и резким по вкусу, приобретает квашеные тона.

Ко вторичным продуктам молочнокислого брожения относятся **диацетил, ацетоин и 2,3-бутангликоль**, оказывающие существенное влияние на качество вина (см. подп. 11.3.2). Пороговая концентрация ощущения диацетила в вине — 0,7—0,8 мг/л. Большие количества диацетила придают вину тона квашения.

Под влиянием палочковидных бактерий *Vact. mannitoroeut* происходит так называемое **маннитное брожение**. При этом из фрук-

тозы образуются манит (НОСН<sub>2</sub>- $\begin{array}{ccccccc} \text{H} & \text{H} & \text{OH} & \text{OH} \\ | & | & | & | \\ \text{C} & - & \text{C} & - & \text{C} & - & \text{C} \\ | & | & | & | \\ \text{OH} & \text{OH} & \text{H} & \text{H} \end{array}$ -СН<sub>2</sub>ОН) как

продукт восстановления альдегидной группы маннозы и уксусная кислота. Кроме фруктозы такому брожению подвергаются мальтоза, ксилоза, сахара и другие углеводы.

Молочнокислые бактерии другого типа способны синтезировать **полисахариды** и повышать вязкость вина, вызывая его заболевание, называемое «**ожирение**», или «**тягучесть**». Такая болезнь проявляется в молодых белых малоокислотных и малоспиртуозных винах, бедных дубильными веществами.

В **шампанских винах** молочнокислое брожение может угнетающе действовать на процесс вторичного брожения, что снижает качество готового продукта.

Большой вред молочнокислые бактерии могут приносить хересным винам — развиваясь под хересной пленкой, они разлагают полезные компоненты: альдегиды, яблочную и лимонную кислоты, некоторые азотсодержащие составляющие.

Лечение заболеваний вин, вызванных молочнокислыми бактериями, осуществляется обработкой сернистым ангидридом с последующей обработкой адсорбентами (бентонитом, желатином, рыбьим клеем). При этом основная масса бактерий отделяется от вина фильтрацией.

Столовые вина **пастеризуют нагреванием** до 70—72 °С, а крепленые и десертные — при 50—55 °С.

#### 11.4.3. Яблочно-молочное брожение

Важным, а по мнению некоторых специалистов, единственно полезным процессом, который осуществляется молочнокислыми бактериями в вине, является **яблочно-молочное брожение (ЯМБ)**, вызывающее понижение кислотности в высококислотных винах. Этот вид брожения характерен для широкого круга бактерий, отнесение которых к гомо- или гетероферментативному типу весьма проблематично.



Общую схему ЯМБ можно представить следующим образом:



Превращение двухосновной **яблочной** кислоты в одноосновную **молочную** кислоту снижает кислотность вина (рН повышается). Поскольку этот процесс не сопровождается выделением энергии, для роста и развития бактерий требуются другие элементы питания.

Превращение яблочной кислоты в молочную происходит через щавелевоуксусную кислоту:



Наиболее подходящими агентами яблочно-молочного сбраживания являются **гомоферментативные** палочки и **гетероферментативные** кокки рода *Leuconostoc*. Их ценность обусловлена тем, что имеющаяся в вине глюкоза превращается в молочную кислоту без побочных продуктов.

ЯМБ приводит к существенному повышению в вине концентрации **диацетила** и **ацетоина** (суммарно до 9,3 мг/л). В винах, не прошедших стадии яблочно-молочного брожения, содержание этих компонентов составляло порядка 4,3 мг/л.

ЯМБ может быть индуцировано искусственным введением чистых культур бактерий в бродящее сусло.

Процесс яблочно-молочного брожения можно остановить сульфитацией (введением 25—30 мг/л сернистой кислоты), оклейкой, фильтрацией, а также пастеризацией.

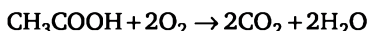
#### 11.4.4. Уксуснокислое брожение (УКБ)

Уксуснокислые бактерии вызывают соответствующее брожение, суть которого заключается в окислении **этанола** в **уксусную** кислоту.



Бактерии рода *Acetobacter* окисляют этанол до уксусной кислоты через уксусный альдегид. При этом интенсивность процесса возрастает с повышением концентрации  $\text{O}_2$ . Параллельно может осуществляться окисление моносахаридов (глюкозы, маннозы, галактозы и др.) в соответствующие кислоты, спирты и другие соединения.

В условиях полного расходования спирта и накопления уксусной кислоты возможно окисление последней:



Бактерии этого вида относятся к **облигатным** аэробам, имеют форму прямых или изогнутых палочек с размерами  $(1-3) \times (0,6-0,8)$  мкм, очень быстро размножаются — их число удваивается через каждые 30 мин. Характерной чертой многих видов уксуснокислых бактерий является **размножение на поверхности** питательной среды с образованием пленки.

К группе УК-бактерий относятся два рода: *Acetobacter* и *Gluconobacter*. Род *Acetobacter* объединяет ряд видов (*A. aceti*, *A. xylinum* и др.).

Уксуснокислые бактерии всегда присутствуют на винограде (особенно их много на загнивших ягодах, в бродящем сусле и в вине).

Анализ микрофлоры во время брожения по-красному показал, что в сусле после дробления винограда число УК-бактерий составляло порядка  $10^4$ /мл. К концу брожения их численность понизилась до 20 клеток в миллилитре, но при спуске виноматериала в резервуар их количество повысилось до  $3 \cdot 10^3$ /мл. При хранении вина в бочках содержание этих бактерий составляло от  $10^2$  до  $10^4$  в миллилитре, тогда как дрожжи и молочнокислые бактерии почти отсутствовали.

Неблагоприятными условиями для роста и деления уксуснокислых бактерий являются: концентрация спирта — 15—16 %, концентрация уксусной и других кислот — 10—11 %, температура — в пределах 40 °С. В таких условиях появляются характерные для УК-бактерий инволюционные формы — **гипертрофированные клетки-гиганты**, не способные делиться.

В качестве источников питания уксуснокислые бактерии используют глюкозу и другие моносахариды, многоатомные спирты, минеральный азот, в частности аммонийные соли, витамины. Бактерии *A. aceti* сами синтезируют витамины.

Рост бактерий тормозится в средах, содержащих этиловый спирт и уксусную кислоту.

УК-бактерии не разлагают белки и не растут на мясопептонных средах. Они лишены внеклеточных протеиназ и липолитических ферментов.

Размножение и окислительная деятельность бактерий наиболее интенсивно проходят при эффективном аэрировании питательной среды.

Температурный оптимум колеблется в пределах 15—37 °С. Максимальная скорость роста отмечается при pH 5,4—5,8, но некоторые виды размножаются и при pH 2,5—3,0.

Для конструкционных целей бактерии ассимилируют CO<sub>2</sub>.

УК-бактерии довольно спиртоустойчивы. Так, *A. ascendens* погибает при содержании спирта 12,5 %. Однако для *A. galeus* летальной является уже концентрация 6,5 %. Остальные культуры бактерий выдерживают концентрацию спирта 11—12 %.

Для **инактивации** всех видов уксуснокислых бактерий в винах используют **сульфитацию** с концентрацией SO<sub>2</sub> и его производных 175 мг/дм<sup>3</sup>.

Уксуснокислые бактерии вызывают также **этерификацию** уксусной кислоты — образующийся этилацетат сообщает винам особые органолептические качества.

Развиваясь в вине и превращая этиловый спирт в уксусную кислоту, уксуснокислые бактерии вызывают одно из наиболее распространенных и опасных болезней как молодых, так и старых вин — **уксусное окисление**. Лечение вин с содержанием летучих кислот до 3,0 г/дм<sup>3</sup> можно осуществлять с помощью хересных дрожжей, которые наряду с окислением спирта разрушают уксусную и молочную кислоты.

Если же процесс скисания зашел далеко, то вино следует превратить в **уксус** или перегнать с целью извлечения спирта. Для получения пищевого уксуса применяют чистые культуры УК-бактерий. В качестве сырья для **винного уксуса** используют естественные субстраты и напитки, содержащие этиловый спирт (вино, пивное сусло, перебродившие плодово-ягодные соки). При использовании же водного раствора этилового спирта получают **спиртовый** (белый) уксус.

Спиртовый уксус содержит кроме уксусной кислоты (6—11 %) небольшие примеси высших эфиров, придающих продукту особый аромат и вкус.

Характеризуя окислительные способности УК-бактерий, следует отметить, что выражается она у разных видов по-разному. Одни окисляют одноатомные спирты, пировиноградную и молочную кислоты, а другие весьма активны в окислении углеводов с образованием кетонов.

Штамы *A. aceti* и *A. pasteurianus* окисляют органические кислоты, в связи с чем в вине снижается содержание лимонной, яблочной и винной кислот.

Молочная кислота в условиях низких концентраций кислорода окисляется уксуснокислыми бактериями до ацетальдегида.

С давних пор культивируется **симбиоз** уксуснокислых бактерий и дрожжей. Такого рода закваски используют, например, для приготовления **бальзамического** уксуса на основе сброженного виноградного сока (Италия). А для приготовления **чайного кваса** (чайного гриба) в России использовали в качестве питательной среды раствор сахара и экстракт чая.

В виноделии широко распространена **цвель** вина — заболевание, вызываемое пленчатыми дрожжами родов *Pichia*, *Hansenula* и др. Причем многие из дрожжей этого типа весьма устойчивы к диоксиду серы. Они восстанавливают  $\text{SO}_2$  до серы и сероводорода, выдерживая в ряде случаев действие до 500 мг/дм<sup>3</sup> антисептика.

### Вопросы и задания для самоконтроля

1. Покажите химический состав винограда и суслу. Какую функцию выполняют в виноматериалах фенольные соединения?
2. Какие биохимические процессы протекают на стадии приготовления виноградного суслу?
3. Опишите характерные признаки дрожжевого брожения суслу. Какие классы органических соединений образуются в виноматериале в результате брожения?
4. Какие виды бактериального брожения имеют место в виноматериалах и как они влияют на качество конечного продукта? Опишите уксусное окисление и «цвель» вина.

## Глава 12

# ОБМЕН ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В МИКРООРГАНИЗМАХ И ВЫСШИХ РАСТЕНИЯХ

### 12.1. Алифатические кислоты

Среди обширного ряда органических кислот  $C_1$  —  $C_{24}$ , встречающихся в природе (преимущественно в виде сложных эфиров липидов и восков), выделяют группы низкокипящих представителей  $C_1$  —  $C_4$ , хорошо перегоняющихся с паром и называемых в этой связи **летучими кислотами**. Содержатся они в биологических средах как в свободном состоянии, так и в виде сложных эфиров или солей.

Из низкомолекулярных кислот наиболее важными являются муравьиная, уксусная и масляная кислоты.

**Муравьиная** кислота  $HCOOH$  найдена в крапиве, малине, в виде сложных эфиров содержится в яблоках.

**Уксусная** кислота является продуктом жизнедеятельности уксуснокислых бактерий, встречается в различных плодах и растительных соках, составляет до 85 % всех органических кислот пшеницы и кукурузы, применяется в пищевой промышленности при изготовлении различных маринадов.

**Масляная** кислота  $CH_3CH_2CH_2COOH$  встречается в небольших количествах в растениях как в свободном состоянии, так и в виде сложных эфиров. Образуется при маслянокислом брожении, обладает неприятным запахом несвежего сливочного масла. В растениях найдены также  **$\beta$ -окси- $\alpha$ -кетомасляная** кислота  $CH_3-CH(OH)-CO-COOH$  и  **$\gamma$ -окси- $\alpha$ -кетомасляная** кислота  $HOCH_2-CH_2-CO-COOH$ . Масляная кислота применяется в парфюмерной и кондитерской промышленности в виде сложных эфиров в качестве ценных ароматических веществ. Например, метиловый эфир масляной кислоты обладает запахом яблок, а этиловый — ананасов.

**Гликолевая**  $HOCH_2COOH$ , **молочная** и **пировиноградная** кислоты встречаются во многих растениях. Последние две кислоты являются продуктами спиртового и молочнокислого брожения.

**Глиоксалевая** (глиоксиловая) кислота  $\text{ОНС}-\text{СООН}$ , простейшая альдегидокислота, найдена в различных плодах и проростках, в пшенице, картофеле. Играет важную роль в глиоксилатном цикле у микроорганизмов и в прорастающих семенах масличных растений.

**Малоновая** кислота  $\text{НООС}-\text{CH}_2-\text{СООН}$  встречается в листьях бобовых растений и в зеленых тканях растений зерновых. В виде малонил-КоА участвует в биосинтезе жирных кислот.

**Янтарная** кислота  $\text{НООСCH}_2\text{CH}_2\text{СООН}$  образуется в небольших количествах при спиртовом брожении. Встречается в ягодах красной смородины, в вишне, винограде, яблоках и других фруктах. Образуется при окислении спирта некоторыми плесневыми грибами. Участвует в качестве интермедиата в цикле Кребса (ЦТК).

**Щавелевоуксусная** кислота  $\text{НООС}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{СООН}$  — промежуточный продукт цикла Кребса. Участвует в биосинтезе аланина, аспаргина и аспаргиновой кислоты. Обнаруживается во многих растениях.

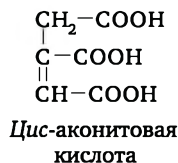
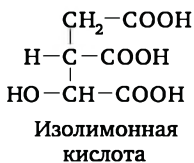
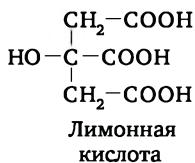
**$\alpha$ -Кетоглутаровая** кислота  $\text{НООС}-\text{CO}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{СООН}$  — промежуточный продукт цикла Кребса. Участвует в образовании глутаминовой кислоты  $\text{НООСCH}_2(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{СООН}$  и глутамина  $\text{НООСCH}_2(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$ . Эта кислота и ряд ее производных обнаружены во многих растениях.

**L-яблочная** (оксиянтарная) кислота  $\text{НООСCH}_2\text{CH}(\text{ОН})-\text{СООН}$  чрезвычайно широко распространена в растениях (в барбарисе, рябине, кизиле, яблоках, в плодах томатов, в семенах злаковых и бобовых). Отсутствует в плодах цитрусовых и в клюкве. Яблочная кислота имеет приятный вкус, безвредна для организма человека. Применяется при изготовлении фруктовых вод и кондитерских изделий.

**Винная** (диоксиянтарная) кислота встречается в растениях в виде оптически активной *D*-винной кислоты и рацемической *DL*-винной, или виноградной кислоты. В винограде *D*-винная кислота содержится вместе с *L*-яблочной и виноградной кислотами. В других ягодах и плодах *D*-винная кислота либо отсутствует, либо содержится в незначительных количествах.

**Фумаровая** кислота  $\text{НООСCH}=\text{CHCOOH}$  имеет *транс*-структуру, найдена в некоторых растениях, в частности маковых, в лишайниках и во многих грибах. Плесневый гриб *Aspergillus fumaricus* при сбраживании сахара образует 60—70 % фумаровой кислоты. Является источником бактериального биосинтеза аспаргиновой кислоты, участвует в цикле Кребса.

Важными метаболитами цикла ди- и трикарбоновых кислот (ЦТК) являются лимонная, изолимонная и *цис*-аконитовая кислоты:



**Лимонная** кислота широко распространена в растениях, ягодах и плодах (в цитрусовых, в смородине, малине, землянике). В лимонах ее содержание достигает 9 % сухой массы, в листьях и стеблях махорки — 7—8 %. Некоторые плесневые грибы из родов *Aspergillus* и *Penicillium* продуцируют лимонную кислоту при выращивании их на растворах сахаров. Лимонная кислота применяется в пищевой промышленности и в качестве консерванта при переливании крови.

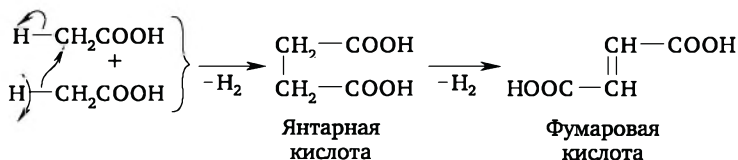
Молодые листья растения *Bryophyllum calycinum* содержат до 18 % **изолимонной** кислоты (от массы сухого остатка). В ягодах ежевики она составляет 2/3 всех органических кислот.

Многие **плесневые** грибы, культивируемые на сахарных растворах или на пептоне, образуют лимонную, щавелевую, фумаровую, яблочную, янтарную, глюконовую и другие кислоты. Образование лимонной требует интенсивной аэрации, и ее выход в ряде случаев достигает 90—100 % от использованного сахара.

Некоторые виды плесневых грибов продуцируют **лимонную** кислоту из солей уксусной кислоты, этилового спирта, фумаровой, яблочной и янтарной кислот.

В процессе производства этих кислот плесневые грибы усваивают углекислый газ. Последний, как известно, легко связывается ферментативно с пировиноградной кислотой, а образующаяся при этом щавелевоуксусная кислота становится источником ряда кислот  $\text{C}_4$ .

Янтарная и фумаровая кислоты синтезируются некоторыми микроорганизмами из уксусной кислоты:



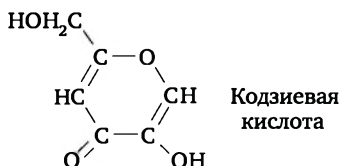
Образование фумаровой кислоты из этилового спирта требует предварительного окисления его в ацетальдегид и далее — в уксусную кислоту.

Заслуживает внимания биосинтез **глюконовой** кислоты, широко применяемой в медицине и фармацевтической промышленности.

Отдельные штаммы плесневого гриба превращают в глюконовую кислоту 100 % взятой сахарозы.

Из мицелия *Aspergillus niger* выделен фермент глюкозооксидаза, окисляющий глюкозу в присутствии кислорода. Реакция сопровождается образованием пероксида водорода, который немедленно разлагается ферментом каталазой.

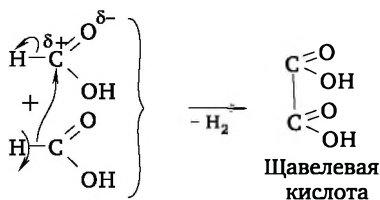
Отдельные штаммы плесневых грибов окисляют многие гексозы и пентозы. В частности, представляет интерес образование плесневыми грибами рода *Aspergillus* на основе глюкозы и некоторых пентоз **кодзиевой** кислоты, применяемой в Японии для изготовления алкогольного напитка **саке**.



Плесневые грибы способны образовывать из множества органических соединений **щавелевую** кислоту, в частности из уксусной кислоты:



Фермент форматдегидрогеназа некоторых плесневых грибов синтезирует щавелевую кислоту из муравьиной:



С другой стороны, грибы легко превращают щавелевую кислоту в **муравьиную** за счет декарбоксилирования:



Культивирование плесневых грибов на питательной среде пептона приводит к образованию органических кислот из **аминокислот**.



Аланин может превращаться в пировиноградную, аспаргиновая кислота в фумаровую, а глютаминовая — в янтарную кислоту.

Органические кислоты алифатического ряда накапливаются в больших количествах во многих **высших растениях**. Причем содержание тех или иных кислот зависит от возраста растений, условий роста (сезона, температуры, освещенности, минерального питания и др.). Так, аммонийные соли приводят к значительному понижению накопления органических кислот, в то время как нитраты оказывают обратное действие.

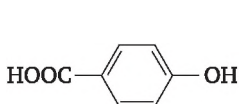
Большая группа высших растений, именуемых **суккулентами**, характеризуется чрезвычайно высоким содержанием органических кислот в стеблях и листьях. К таким растениям относятся алоэ, кактусы, бегония, толстянка и др. Отмечено, что у некоторых суккулентов происходят весьма существенные изменения в содержании органических кислот в течение суток. Например, листья растения *Bryophyllum calycinum* утром содержат много кислот и имеют кислый вкус, к вечеру их содержание резко понижается и листья становятся горькими. Эти изменения зависят от фотосинтетической деятельности листа и связаны с накоплением углеводов, прежде всего, крахмала.

В подп. 11.1.5 представлена схема биосинтеза мевалоновой кислоты и показана ее роль в синтезе спиртов терпеноидного типа — **гераниола** ( $C_{10}$ ) и **фарнезола** ( $C_{15}$ ), содержащих соответственно два и три звена углеродного скелета изопрена. Характерно, что при димеризации двух молекул фарнезилпирофосфата образуется углеводород **скавален** ( $C_{30}H_{50}$ ), являющийся предшественником для биосинтеза стероидов. Последние образуются у животных, дрожжей и растений в результате ряда химических превращений продукта окислительной циклизации скавалена.

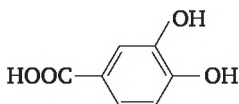
## 12.2. Некоторые кислоты ароматического, гидроароматического и алициклического ряда

Большое разнообразие биологически активных кислот наблюдается в группах фенольных соединений  $C_6$  —  $C_1$  и  $C_6$  —  $C_3$  (см. гл. 11).

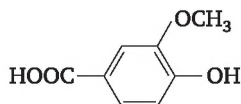
Группа  $C_6$  —  $C_1$ -кислот:



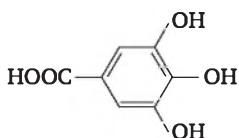
*p*-Оксибензойная  
кислота



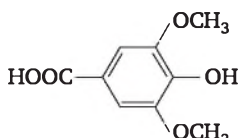
Протокатеховая  
кислота



Ванилиновая  
кислота

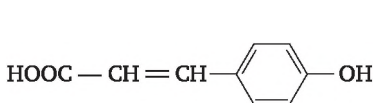


Галловая кислота

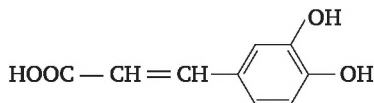


Сиреновая кислота

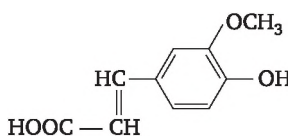
Группа  $C_6 - C_3$ -кислот:



п-Оксикоричная кислота

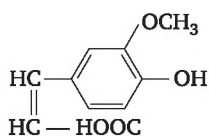


Кофейная кислота



Транс-феруловая кислота

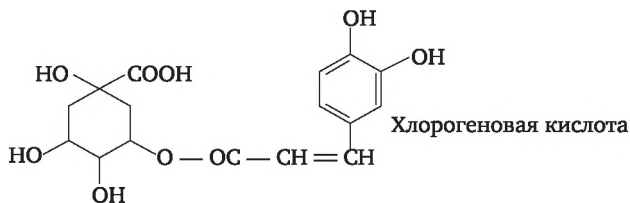
УФ-свет



Цис-феруловая кислота

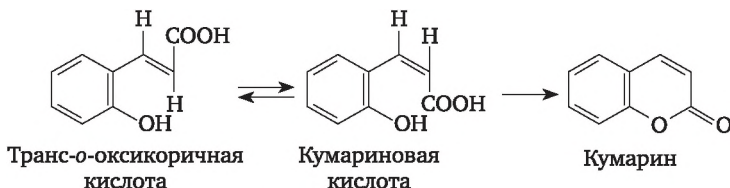
Интересно отметить, что *цис*-формы оксикоричной кислоты и ее производных, например **феруловой** кислоты, являются активаторами роста растений. *Транс*-изомеры такой активностью не обладают.

В растениях часто встречаются эфиры оксикоричных и гидроароматических кислот (хинной и шикимовой), например хлорогеновая кислота:



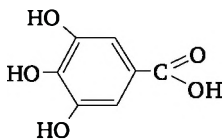
Хлорогеновая кислота

*Цис*-форма оксикоричной кислоты в кислой среде быстро циклизуется с образованием устойчивого лактона **кумарина**:

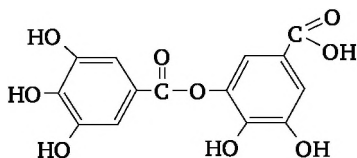


Кумарин — бесцветное кристаллическое вещество с приятным запахом сена, используется в качестве ароматизаторов при изготовлении курительного табака, а также в парфюмерной промышленности.

Из продуктов гидролиза **дубильных веществ**, получаемых экстракцией из некоторых растительных тканей, например коры дуба, выделены **галловая кислота** и продукт ее самоацилирования — **м-дигалловая кислота**.



Галловая кислота



м-Дигалловая кислота

**Сложные эфиры** различных ароматических полиоксикислот, подобные дигалловой кислоте, — так называемые **депсиды** — являются одной из наиболее важных составляющих водорастворимых (гидролизующихся) дубильных веществ.

В этих же дубильных веществах обнаруживаются **таннины**, представляющие собой глюкозу, ацилированную остатками галловой и м-дигалловой кислот.

Наряду с водорастворимыми низкомолекулярными таннинами существуют высокомолекулярные (конденсированные) таннины, образованные в результате конденсации множества гидроксифенильных групп.

Таннины, как и дубильные вещества в целом, способны связываться с белками и модифицировать их, в частности, осаждают белки из растворов. Эти процессы лежат в основе «**дубления**» **шкур**, т. е. превращения ее в кожу. Таннины обуславливают цвет чая и ореховой скорлупы, обладают вяжущим вкусом, вызывающим раздражение языка, что делает их репеллентами для высших животных, птиц, пресмыкающихся и насекомых. Примечательно, что гусеницы в середине лета перестают кормиться на дубе и переходят на другие деревья, что обусловлено резким повышением содержания таннинов, изменяющих питательную ценность белков листа. Связывание последнего таннином затрудняет его перевариваемость.

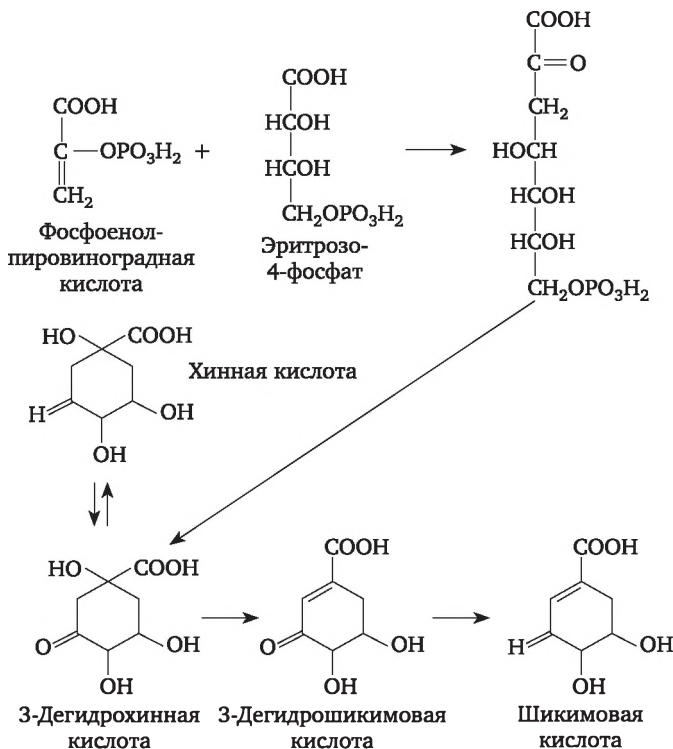
Большое количество таннина содержат **древесные галлы**, т. е. своеобразные опухоли, образующиеся на деревьях как средство химической защиты от вредителей.

Водный раствор таннина связывает ядовитые белковые продукты распада тканей и способствует заживанию ран, а продукт сочетания таннина с альбумином (**таннальбин**), попадая в пищеварительный

тракт, высвобождает танин, который связывает токсины болезнетворных бактерий.

**Пропиловый эфир галловой кислоты** (прогалин Р или РG) используется как консервирующее средство (**антиоксидант**) для многих продуктов, в том числе и пищевых.

Важными природными кислотами гидроароматического ряда являются **хинная** и **шикимовая** кислоты. Их биосинтез осуществляется на основе пировиноградной кислоты (в форме фосфоенола) и эритрозо-4-фосфата по следующей схеме:



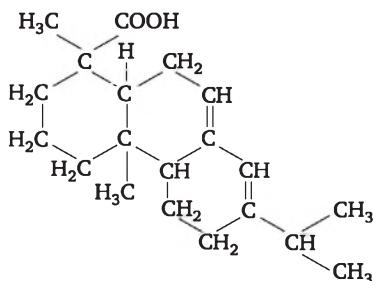
Хинная кислота обнаруживается в коре хинного дерева (до 9 %), в молодых побегах ели, в табаке, в зернах кофе, в ягодах клюквы, крыжовника, ежевики, в плодах яблок и айвы. Используется микроорганизмами для синтеза фенольных соединений.

Шикимовая кислота — ключевой промежуточный продукт в биосинтезе ароматических кислот и фенольных соединений.

В выделениях растений — **смолах** — содержатся циклические кислоты (производные дитерпенов с эмпирической формулой  $C_{20}H_{30}O_2$ ). Они составляют 4/5 смолистых выделений хвойных де-

ревьев (живицы). После отгонки с водяным паром из живицы скипидара остается твердый остаток — **канифоль**, главную массу которой и составляют циклические кислоты, получившие название **смоляных кислот**.

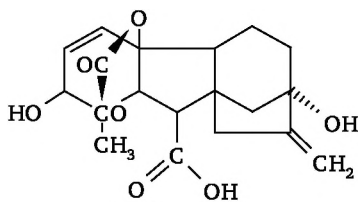
Имеющаяся в нелетучей фракции пихтовой живицы **левопimarовая кислота** под действием уксусной кислоты превращается в сравнительно устойчивую **абиетиновую кислоту**:



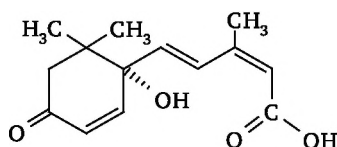
Абиетиновая кислота

Эта кислота широко применяется в производстве пластических масс, мыла, лаков.

Еще одной группой биоактивных производных алициклических кислот являются **гиббереллины**, выделенные впервые из продуктов жизнедеятельности грибов рода фузариум. Многие из них, в частности **гибберелловая кислота** (гиббереллин  $A_3$ ), являются сильными стимуляторами роста растений.



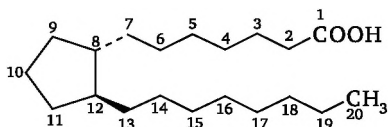
Гиббереллин  $A_3$



Абсцизовая кислота

Засухоустойчивые растения (ксерофиты) характеризуются высоким содержанием гормона — **абсцизовой кислоты**, участвующей в регулировании каналцев, через которые испаряется вода. Так, в листьях пшеницы уже через 4 ч после начала завядания содержание абсцизовой кислоты возрастает в 40 раз. Действие ее обратимо, и при достаточном обеспечении водой ее уровень восстанавливается.

Весьма широким оказался спектр биологического действия **простагландинов** — группы природных и синтетических полифункциональных производных протановой кислоты ( $C_{20}$ ):



Установлено их влияние на кровяное давление (как сосудорасширяющих веществ), на ритм работы сердца, функцию половых гормонов и т. д. Представляет интерес возможность использования простагландинов в акушерской и гинекологической практике в целях облегчения родов и предупреждения беременности. С другой стороны, открывается перспектива повышения с их помощью эффективности искусственного осеменения животных. Простагландины в химическом отношении нестойки, что препятствует их широкому применению.

### Задания для самоконтроля

1. Покажите, какие алифатические, ароматические и алициклические кислоты образуются в микроорганизмах и высших растениях в результате обмена веществ.

## Глава 13

# ВЕЩЕСТВА ВТОРИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМАХ

Наряду с основополагающими классами органических соединений: белками, углеводами, липидами, нуклеиновыми кислотами и витаминами — в живых организмах непрерывно производятся и включаются в обмен различные вещества, условно называемые **веществами вторичного происхождения**. Одни вещества из этого ряда, например органические кислоты, образуясь в клетке, не накапливаются, а тотчас же используются в качестве промежуточных продуктов обмена, другие (фенольные соединения, эфирные масла, каучук) нередко накапливаются в больших количествах.

Многие из этих веществ в значительной степени определяют пищевые достоинства продуктов питания, другие выделяются и широко используются в медицине как биологически активные вещества или же в промышленности.

Отдельные вещества и ряды соединений вторичного происхождения, в частности органические кислоты, гидроароматические соединения фенольного типа, в большей или меньшей степени уже рассмотрены в предыдущих главах, что упрощает задачу раскрытия темы в настоящей главе.

### 13.1. Гликозиды

**Гликозиды** — это продукты замещения атома водорода в гликозидном гидроксиле моно- и олигосахаридов на радикал, в ряде случаев — сложного строения, называемый агликоном («не-сахаром»). В зависимости от того, какая форма моносахарида ( $\alpha$  или  $\beta$ ) входит в состав гликозида, образуются соответственно  $\alpha$ - или  $\beta$ -гликозид. Заметим, что если гликозид образует глюкоза, то называется он **глюкозидом**.

Дисахариды формально можно также рассматривать как гликозиды, но место агликона занимает в молекуле остаток того или иного моносахарида. Поэтому гидролитическое расщепление гликозидов и дисахаридов, а также трисахарида рафинозы, состоящего из звеньев  $\alpha$ -галактопиранозы,  $\alpha$ -глюкопиранозы и  $\alpha$ -фруктофуранозы,

осуществляется одними ферментами. Например, фермент  $\alpha$ -глюкозидаза гидролизует все  $\alpha$ -глюкозиды и дисахариды, построенные по типу  $\alpha$ -глюкозидов — мальтозу и трегалозу. А фермент  $\beta$ -глюкозидаза расщепляет глюкозиды и дисахариды, построенные по типу  $\beta$ -глюкозидов, например целлобиозу.

Гликозиды часто имеют горький или сладкий вкус, а в ряде случаев — специфический аромат, что используется в пищевой промышленности.

Как известно, вкусовые ощущения человека возникают в результате взаимодействия молекул вещества с белковой матрицей рецепторов на специальных бугорках языка.

Подобно ферментативным реакциям эти взаимодействия в высокой степени зависят от структурных особенностей молекул действующего вещества. Так,  $\alpha$ -D-манноза сладкая, в то время как  $\beta$ -D-манноза горькая на вкус, хотя отличаются они лишь конфигурацией атома углерода C-1:



$\beta$ -D-фруктопираноза слаще ее изомера  $\beta$ -D-фруктофуранозы.

Сладкими на вкус являются дисахариды: мальтоза, лактоза и ген-тибиоза. В то же время трисахарид раффиноза — безвкусный.

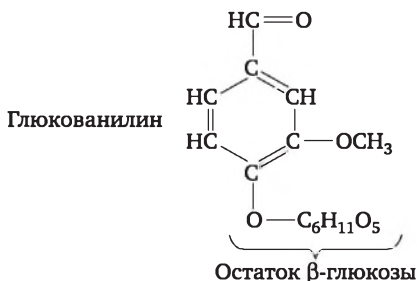
В растениях найдены очень сладкие вещества из ряда гликозидов. Так, в листьях стевии (*Stevia rebaudiana*) обнаружен гликозид дитерпена — **стевиозид**, рассматриваемый как потенциальный заменитель сахарозы, в 300 раз уступающей ему в сладости и характеризующейся высокой калорийностью. Стевиозид, однако, обладает тем недостатком, что после него во рту сохраняется лакричный привкус.

Терапевтическое действие **солодкового корня** обусловлено **глицирризином**, который в чистом виде в 50 раз слаще сахара. Глицирризин является К- и Са-солью гликозида, образованного ди-глюкоуронидом и полициклической тритерпеноидной (**глицирретиновой**) кислотой.

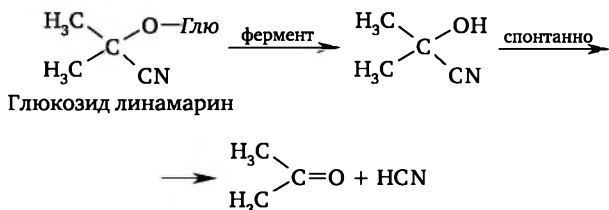
Глюкозид **синигрин**, содержащийся в семенах черной горчицы, придает им специфический запах и горький вкус. С наличием глюкозида **амигдалина** связан специфический вкус и аромат горького миндаля, а также абрикосовых, персиковых и сливовых косточек.



Глюкозид, находящийся в плодах ванили, — **глюкованилин**, подвергается ферментативному гидролизу с образованием ванилина и глюкозы:

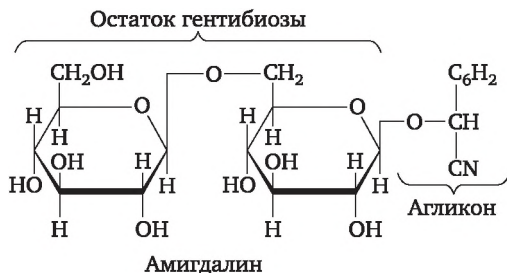


В растительном мире часто встречаются **цианогенные гликозиды**, которые при гидролизе выделяют цианистый водород, который, как известно, токсичен для широкого спектра организмов благодаря тому, что он является **ингибитором** железосодержащих ферментов **цитохромов** в окислительной цепи.



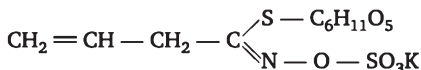
Источниками HCN являются семена горького **миндаля**, а также травы — **клевер**, **лядвенец** и др.

В листьях и косточках плодов многих растений: абрикоса, яблоки, горького миндаля, вишни, сливы, персика, рябины — содержится гликозид **амигдалин**, который сочетает дисахарид гентиобиозу и агликон, представляющий собой продукт присоединения синильной кислоты к бензальдегиду. Агликон соединен с остатком гентиобиозы β-глюкозидной связью:

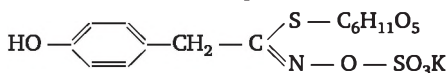


При кислотном гидролизе и под влиянием  $\beta$ -глюкозидазы ферментного препарата **эмульсина** амигдалин образует две молекулы глюкозы. Под действием ферментов дрожжей от амигдалина отщепляется лишь одна молекула глюкозы.

Семена различных видов горчицы и хрен содержат тиогликозиды **синигрин** и **синальбин**, в которых сахар связан с агликонами через серу:



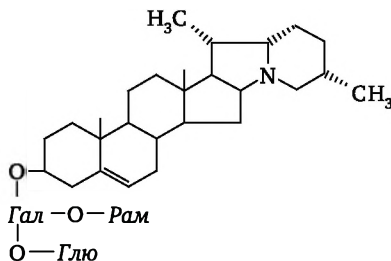
Синигрин



Синальбин

Под действием ферментов, содержащихся с хрене и семенах горчицы, синигрин расщепляется с образованием эфирно-горчичного масла, придающего этим продуктам характерный для них жгучий вкус.

К группе гликозидов, содержащих агликон стероидной природы, принадлежат **соланины**. Эту группу гликозидов, распространенных в растениях из семейства пасленовых, иначе называют **гликоалкалоидами**. В картофеле найдено шесть алкалоидов, у которых один и тот же агликон (соланидин) связан с различными остатками сахаров.



Соланин — преобладающий алкалоид клубневого растения *Solanum Tuberosum* (Solanaceae), где Глю — глюкоза; Рам — **рамноза**; Гал — галактоза. Ядовит, опасен при чрезмерном накоплении в позеленевших клубнях, которые находились на поверхности почвы или содержались на свету.

Близкими по структуре соланину (*S. Tuberosum*) являются стероидный алкалоид **демиссин**, найденный в диком картофеле, а также алкалоид некоторых видов томатов и картофеля — **томатин**. Вместо характерного для соланина фрагмента трисахарида демиссин

и томатин содержат тетрасахарид со звеном ксилозы и не обладают  $\Delta 5$ -двойной связью, что делает их токсичными (пищевыми детергентами) для колорадского жука.

Скращиванием *Solanum Demissum* и *Solanum Tuberosum* были получены новые виды картофеля, не подвергающиеся нападению колорадского жука. При этом, однако, остаются открытыми вопросы, во-первых, насколько долго сохраняются приобретенные трансгенным картофелем антифидантные (несъедобные) для жука свойства, а во-вторых, не проявятся ли некие новые негативные эффекты биологической, в частности мутагенной или тератогенной, активности картофеля при длительном его употреблении человеком.

Важное значение для производства стероидных гормонов и лекарственных препаратов приобрели  $C_{27}$ -стероидный алкалоид **соласодин** и  $C_{27}$ -стероидный сапогенин **диосгенин**. Сапогенины представляют собой гликозиды с агликонами стероидной природы.

Для детоксикации растительных клеток важным является гликозирование чужеродных соединений и ядовитых метаболитов. Образующиеся при этом гликозиды изолируются в клеточных вакуолях. В качестве агликонов могут выступать фрагменты **алкалоидов** (см. соланин), **красящих пигментов**, например флавоноидов, **полиоксипроизводных многоядерных ароматических углеводов** (дубильных веществ, танинов), продуктов биохимической модификации **ксенобиотиков** (чужеродных веществ, поступающих в организм извне) и т. д.

В клетках животного основным путем детоксикации является образование **глюкоурионида** или **этерифицированного сульфата**, которые выводятся из организма с мочой.

### 13.2. Эфирные масла, смолы, каучук

Во многих растениях, цветках и семенах содержатся летучие душистые масла и смолы. Как правило, они не растворимы в воде, но растворяются в различных органических растворителях.

Эфирные масла перегоняются с водяным паром, однако при этом теряется часть летучих ароматических веществ. Поэтому в большинстве случаев их выделяют экстракцией при помощи низкокипящих растворителей или методом **энфлеража**. Суть последнего заключается в том, что части растений и цветки смешивают со свиным или говяжьим жиром. Жир поглощает душистые вещества, которые затем экстрагируются спиртом.

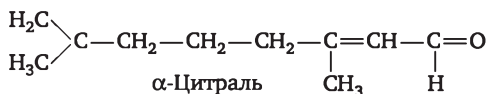
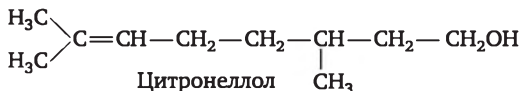
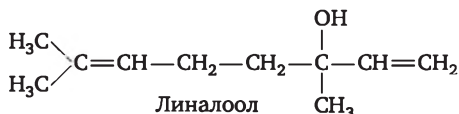
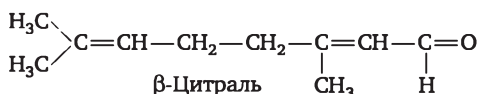
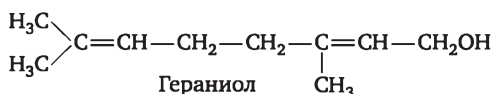
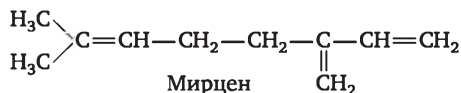
Эфирные масла широко применяются в парфюмерной и мыловаренной промышленности, в косметике и фармацевтической промышленности, в пищевой промышленности при изготовлении сладостей и напитков. Выделяемый из смол скипидар используется

в химической промышленности в качестве растворителя и сырья для синтеза, в частности, камфоры. Особенно высоко ценится розовое масло.

В состав эфирных масел входят **спирты**, как в свободном виде, так и в виде **гликозидов**. Так, в цветках розы найдены гликозиды  $\beta$ -фенилэтилового спирта и гераниола. При производстве розового масла цветки подвергаются ферментации — под действием  $\beta$ -глюкозидазы происходит гидролиз гликозидов.

Важнейшей составной частью эфирных масел являются терпены и их кислородсодержащие производные (спирты, альдегиды и кетоны) — **терпеноиды**. Они объединяются общим названием — **изопреноиды** — так как их углеродные цепи можно формально расчленить на звенья углеродного скелета изопрена ( $\text{H}_2\text{C}=\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}-\text{HC}=\text{CH}_2$ ).

Терпены разделяют на алифатические и циклические. По числу звеньев скелета изопрена выделяют также **терпены** ( $\text{C}_{10}$ ), **сесквитерпены** ( $\text{C}_{15}$ ), **дитерпены** ( $\text{C}_{20}$ ), три-, тетра- и **политерпены** с числом атомов углерода до 4000. Отметим некоторые типичные представители **монотерпенов** и их производных:

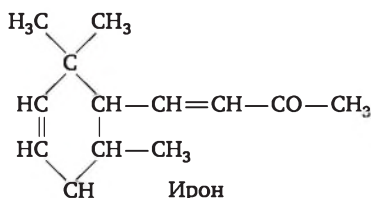
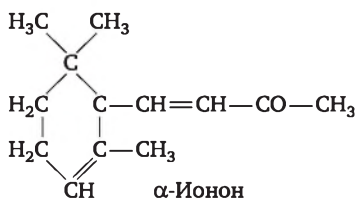


Большое количество **мирцена** содержится в эфирных маслах растения сумаха (до 52 %) и хмеля (30—50 %).

В цветках ландыша, в апельсиновом и кориандровом маслах содержится **линалоол** — жидкость с запахом ландыша. В парфюмерии он применяется как в чистом виде, так и в виде уксуснокислого эфира. Аромат персика обусловлен сложными эфирами линалола — уксуснокислым, муравьинокислым и валериановокислым.

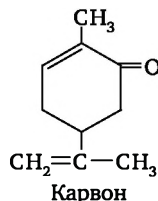
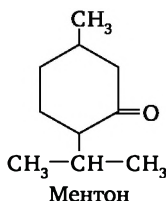
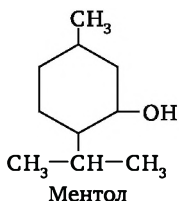
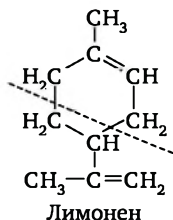
В масле эвкалипта содержится **гераниол**, вместе с **цитронеллолом** он входит также в состав розового масла. При окислении гераниола образуется альдегид — **цитраль** — в виде смеси двух изомерных форм —  $\alpha$  и  $\beta$ .

Цитраль при взаимодействии с ацетоном образует циклическое соединение — ионон, которое входит в состав молекулы каротина и витамина А.



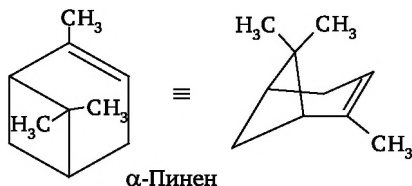
**Ионон** и его изомер **ирон** обладают запахом фиалки.

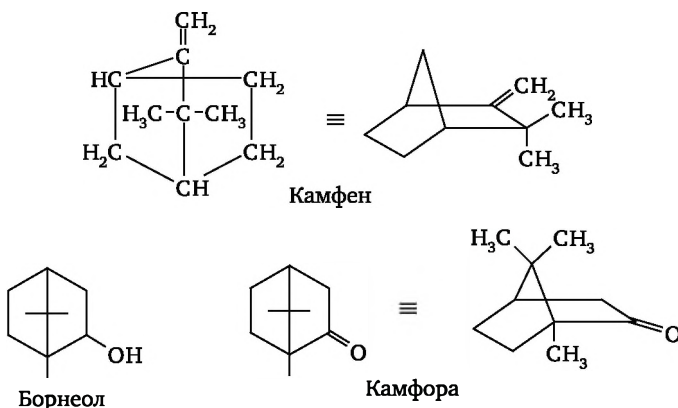
В скипидаре, тминном масле, в масле укропа содержится моноциклический монотерпен **лимонен**, углеродный скелет которого является основой для ряда кислородосодержащих соединений (терпеноидов):



Ментол составляет основную часть (до 70 %) эфирного масла перечной мяты, а циклический кетон **карвон** содержится в эфирных маслах тмина и укропа.

Среди **бициклических** монотерпенов наибольшее значение имеют пинен и камфен, а также их кислородосодержащие производные — борнеол и камфора.





**Пинен** — главный компонент скипидара и составная часть многих масел (пихтового, лавандового, кипарисового и др.).

**Камфора** содержится в древесине и листьях камфорного лавра и в полыни.

Дитерпены  $C_{20}$  почти не летят с водяным паром. **Фитол** — гидрированный дитерпеновый спирт  $C_{20}H_{39}OH$  — входит в состав хлорофилла.

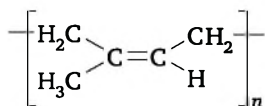
Дитерпены содержатся в выделениях растений — бальзамах и смолах. Особенно широко в смолах распространены соответствующие кислоты, имеющие эмпирическую формулу  $C_{20}H_{30}O_2$ . Они составляют 4/5 смолистых выделений хвойных растений (живицы).

В состав смол кроме кислот входят также спирты, фенолы, дубильные вещества и углеводороды, подобные трициклическому углеводороду **ретену**  $C_{18}H_{18}$ . Представителем тритерпенов является **скален** ( $C_{30}H_{50}$ ), (см. подп. 11.1.5), а каротиноиды относятся к ряду тетратерпенов и их кислородных производных.

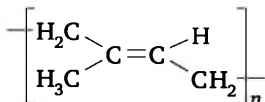
Представителями политерпенов являются **каучук** и **гутта**. Более 2000 растений способны образовывать в своих тканях каучукоподобные полимеры, однако лишь некоторые из них способны накапливать такие продукты в количествах, достаточных для промышленных разработок.

Уникальным источником предшественника каучука — млечного сока (**латекса**) — является культивируемое в тропиках каучуконосное дерево гевея (*Hevea brasiliensis*). Каучуконосами являются также произрастающие в Средней Азии растения **кок-сагыз** и **тау-сагыз**, в корнях которых содержится 30—40 % каучука.

Натуральный каучук представляет собой продукт полимеризации изопрена с *цис*-конфигурацией олефиновой связи, включающий от 1000 до 6000 звеньев



Близкой по составу и строению каучуку является **гуттаперча**, заключающая в своих цепях до 100 звеньев изопренового углеродного скелета с *транс*-конфигурацией:



Исходным материалом для получения гуттаперчи является полимер гутта, источниками которого являются тропическое дерево *Paladium gutta*, кустарник бересклета (*Evonymus*) и субтропическое дерево эвкомия (*Eucommia*). У бересклета наиболее богата гуттой кора корней (12 %), а в листьях эвкомии содержание гутты составляет 1,5—4 % (на сухое вещество).

Биосинтез каучука гутты тесным образом связан с синтезом терпенов и каротиноидов. Исходным продуктом для синтеза соединений этого ряда является, как показано в гл. 12, **мевалоновая кислота**.

### 13.3. Алкалоиды

Большую группу природных соединений основного характера, включающих азотсодержащие гетероциклические системы, составляют **алкалоиды**. Как правило, это твердые вещества, трудно растворимые в воде, но легко растворяющиеся в органических растворителях. В природных объектах они обычно находятся в виде солей органических кислот. Выделены и идентифицированы более 10 000 алкалоидов. Классификацию алкалоидов проводят, как правило, по группам растений, из которых они извлекаются: алкалоиды **коки** (южноафриканского дерева), алкалоиды **опия**, алкалоиды **паслёновых**, алкалоиды **болиголова** и т. д.

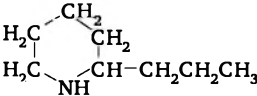
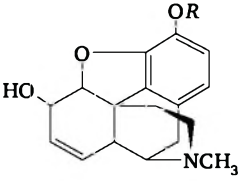
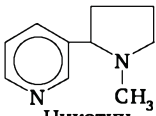
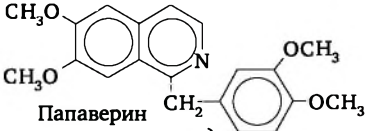
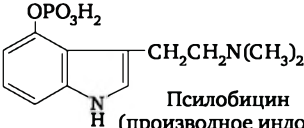
Известно большое множество алкалоидов — производных пирролидина, индола, пиридина, хинолина, пиперидина и других гетероциклов. Некоторые их представители показаны в табл. 13.1.

Большое количество алкалоидов содержит асимметрические атомы углерода, что очень затрудняет их синтез. Например, **резерпин** (алкалоид раувольфии), используемый как средство против гипертонической болезни, содержит шесть асимметрических атомов и, соответственно, может иметь 64 (2<sup>6</sup>) изомера, но фармакологически активным является только один из них. Молекула **хинина** — алкалоида, принадлежащего к группе производных хиноли-

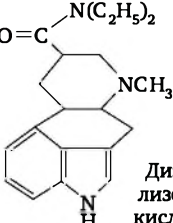
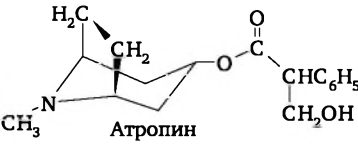
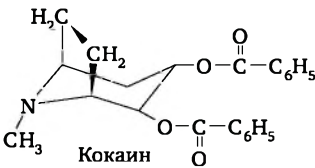
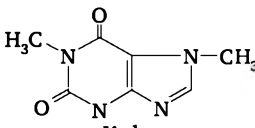
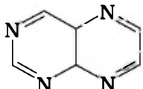
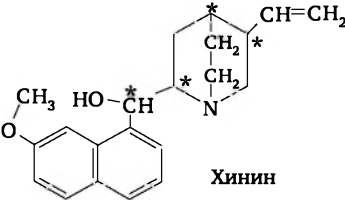
на (см. табл. 13.1) и являющегося эффективным антималярийным средством, содержит четыре асимметрических атома углерода. Заметим, однако, что резерпин и хинин синтезированы в лаборатории (США, Вудворд).

Таблица 13.1

**Структура и биологическая активность ряда алкалоидов**

Формула, название	Нахождение в природе
 <p>Кониин (производное пиперидина)</p>	Главный алкалоид болиголовы, сильный яд
 <p><math>R = H</math> – морфин <math>R = CH_3</math> – кодеин</p>	Входят в состав алкалоидов опия, содержатся в соке незрелых головок мака, обладают наркотическим действием. Морфин — обезболивающее средство (анестетик). Гидрохлорид диацетильного производного морфина — героин — сильный наркотик
 <p>Никотин (производное пиридина)</p>	Содержится в табаке, ядовит. Применяется в качестве контактного инсектицида
 <p>Папаверин (производное хинолина)</p>	Содержится в соке головок мака (опии). Сосудорасширяющее средство (применяется в медицине)
 <p>Псилобицин (производное индола)</p>	Содержится в грибах <i>Psilocybe</i> , обладает психомиметическим действием



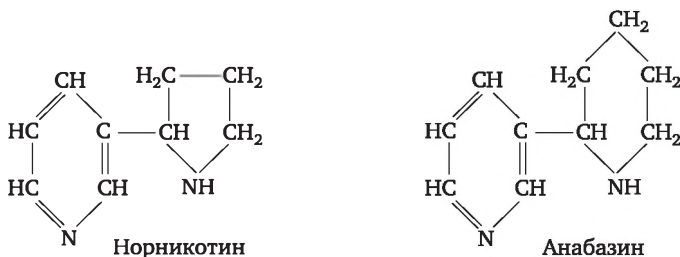
Формула, название	Нахождение в природе
 <p>Диэтиламид лизергиновой кислоты (ЛСД)</p>	Галлюциноген, сильный наркотик — действующая доза — около 1 мг
 <p>Атропин</p>	Алкалоид белладонны, дурмана и белены. Обладает мидриотическим действием (расширяет зрачок глаза), снимает спазм. Токсичен
 <p>Кокаин</p>	Алкалоид кока, анестетик, вызывает наркоманию (привыкание нервной системы к его приему)
 <p>Кофеин (производное пурина)</p>	Содержится в чайном листе и кофейных зернах. Тонизирующее средство — возбуждает нервную систему, стимулирует работу сердца, учащает пульс. Близкими по структуре кофеину являются теобромин (алкалоид какао) и теофиллин (алкалоид чая)
 <p>Птеридин; 1,3,5,8-тетра- азанафталин (основа ряда производных птеридинов)</p>	Включен в структуру важных витаминов — фолиевой кислоты и рибофлавина (витамина В <sub>2</sub> )
 <p>Хинин</p>	Содержится в коре хинного дерева. Эффективное противомаларийное средство

Общим свойством для всех алкалоидов является то, что в физиологическом действии на животные и человеческий организмы они чрезвычайно активны. Обширный ряд алкалоидов и продуктов их химической модификации используется в качестве **лекарственных средств и пестицидов**. Токсичность и лечебные свойства экстрактов многих растений, содержащих алкалоиды, известны с глубокой древности. Например, древние греки отравили философа Сократа, используя экстракт из листьев болиголова.

Большинство алкалоидов действует на нервную систему: в малых дозах они оказывают возбуждающее действие, в больших дозах — угнетающее, а при превышении некоторой критической дозы может наступить летальный исход. Так, кокаин, употребляемый в медицине в качестве местного обезболивающего средства, действует на чувствительные окончания периферической нервной системы, результат воздействия, естественно, зависит от дозы.

Содержащийся в млечном соке мака алкалоид **изохинолинового** ряда **морфин** действует на центральную нервную систему, вызывая сон. В биогенезе предшественником морфина выступают аминокислоты тирозин и метионин. Морфин используется в медицине в качестве общего обезболивающего средства.

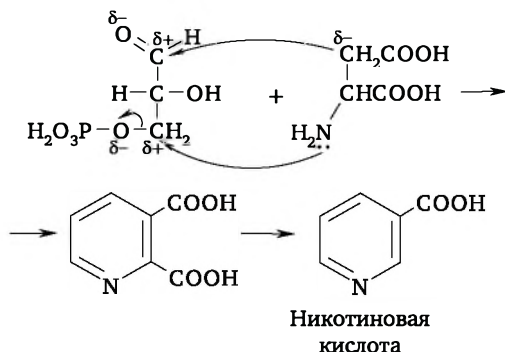
Содержащийся в табаке **никотин** также действует на центральную и периферическую нервную систему. Кроме никотина в табаке содержится ряд других пиридиновых алкалоидов, в частности **норникотин** и **анабазин**.



Никотин — бесцветная ядовитая жидкость. При отравлении никотином смерть наступает от паралича дыхания. Никотин в большом количестве получают из отходов табачной промышленности и используют в качестве пестицида для борьбы с насекомыми.

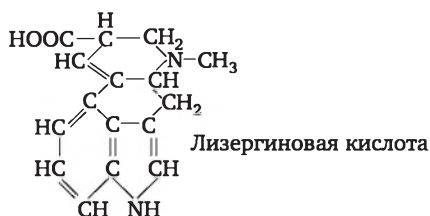
Различные виды табака сильно различаются по содержанию никотина, норникотина и анабазина. Например, табак *Nicotina glauca* содержит только **анабазин**.

Предшественником пиридинового фрагмента никотина и анабазина является никотиновая кислота, которая, в свою очередь, образуется путем конденсации глицеральдегид-3-фосфата и аспаргиновой кислоты:



Алкалоид, содержащийся в соке некоторых южноамериканских растений, — **кураре** — действует на двигательные центры нервной системы и вызывает паралич. Именно поэтому он использовался индейцами для смазывания стрел.

В рожках спорыньи — зимующей формы гриба *Claviceps purpurea*, который развивается в зерне ржи, содержится ряд алкалоидов — производных **индола**. Из этих рожков выделено 12 алкалоидов. В основе их строения лежит **лизергиновая кислота** и ее изомер — **изолизергиновая кислота**



Эти кислоты синтезируются в мицелии спорыньи из триптофана и мевалоновой кислоты. Лизергиновая кислота способна реагировать с аминокислотами, пировиноградной кислотой или аминокислорами, образуя тот или иной алкалоид.

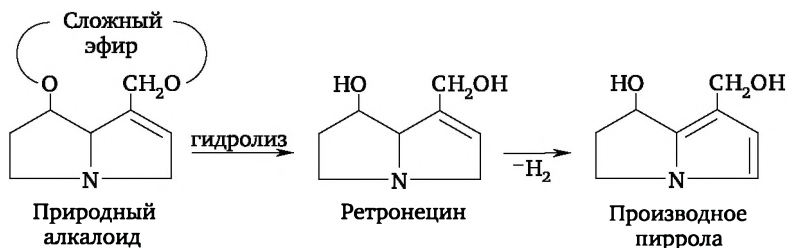
Спорынья очень ядовита, и попадание ее в размолотом виде в муку может привести к массовым отравлениям. Поэтому **очистка** зараженного зерна перед переработкой от **рожков спорыньи** является важнейшей операцией.

Вместе с тем рожки спорыньи используются для медицинских целей и специально выращиваются на искусственных средах.

Одной из наиболее токсичных является группа **пирролизидиновых** алкалоидов, вызывающих у сельскохозяйственных животных, как и алкалоиды никотиновой группы и производные пиперидина (например, конииин болиголова), **тератогенный эффект**. Последний, как известно, связан с врожденными уродствами у потомства.

Опасны алкалоиды этого вида и для человека. В этой связи важно отметить, что используемый в медицинских целях **окопник лекарственный** (*Symphytum officinale*) содержит опасные для здоровья пирролизидиновые алкалоиды.

Метаболизм пирролизидина у млекопитающих включает гидролиз сложноэфирных групп алкалоида с образованием главного исходного соединения — ретронецина, который превращается в опасный токсин — производное пиррола.



Некоторое количество последнего выводится из организма с мочой в виде конъюгата, однако большая его часть локализуется в печени или же циркулирует в крови, поражая легкие.

Отмечается способность насекомых кормиться растениями, содержащими пирролизидиновые алкалоиды, и запасать их. Они служат, во-первых средствами химической защиты от хищников и, во-вторых, выступают в качестве предшественников в биосинтезе феромонов.

Известны алкалоиды и животного происхождения, т. е. синтезируемые *de novo* насекомыми. В большом разнообразии они обнаружены у огненных муравьев, многоножек, божьих коровок и плавунов. Европейская многоножка *Glomeris marginata* синтезирует хиназолиноны: **гломерин** и **гомогломерин**. Эффективность этих токсинов подтверждается тем, что поедание многоножек вызывает смерть у мышей.

Защитная мощь огненных муравьев определяется ядом, который обладает гемолитическими, инсектицидными и антибиотическими свойствами. Действующее начало яда — смесь 2,6-диалкилпиперидинов, простейший из которых — 2-метил-6-нонилпиперидин.

Потрясенные божьи коровки выделяют жидкий алкалоидный N-оксид — кокцинеллин, защищающий их от хищников.

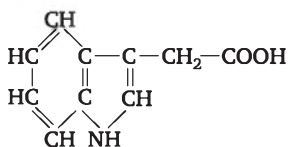
Алкалоиды участвуют в обмене веществ, их содержание в растениях подвержено значительным колебаниям в зависимости от стадии развития и питания. В частности, N-оксидные формы алкалоидов могут отдавать свой кислород, окисляя аскорбиновую кислоту, лимонную кислоту, гидрохинон и пирогаллол.

### 13.4. Регуляторы роста растений. Аллелопатия

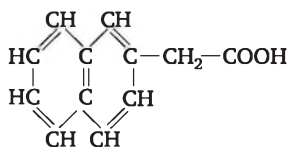
Идентифицирован ряд соединений — продуктов метаболизма в растительной клетке, которые регулируют рост растений или отдельных их органов (например, корней).

В прорастающих семенах овса обнаружены вещества, ускоряющие рост клеток, — так называемые **ауксины**. Наиболее важное из них — **гетероауксин** — представляет собой β-индолилуксусную кислоту. Оказалось, что она образуется также микроорганизмами: дрожжами, бактериями и грибами. Именно благодаря жизнедеятельности кишечной микрофлоры эта кислота обнаруживается в моче млекопитающих.

Индолилуксусная кислота, как и ряд синтезированных ауксинов, например β-нафтилуксусная кислота, используется в сельскохозяйственной практике, причем в очень низких концентрациях (1:10 000—1:100 000), для ускорения образования корней у черенков растений (цитрусовых и др.).



β-Индолилуксусная кислота



β-Нафтилуксусная кислота

Интересно отметить, что действие индолилуксусной кислоты стимулируется рядом веществ: глутатионом, кверцетином, рутином и др., которые разрушают фермент оксидазу β-индолилуксусной кислоты. И наоборот, вещества типа кумарина стимулируют действие указанной оксидазы, ослабляя таким образом физиологическое действие β-индолилуксусной кислоты.

Некоторые формы гриба *Fusarium moniliforme* вызывают заболевание и гибель молодых растений риса, однако при этом обнаруживался очень быстрый рост отдельных стеблей и листьев. Оказалось, что такое ускорение роста вызывают вещества, названные **гиббереллинами**. Мощное стимулирующее действие они оказывают и на рост биомассы других растений.

Гиббереллины представляют собой терпеноиды и, как показано в п. 12.2, исходным соединением для их синтеза является мевалоновая кислота. Там же представлена структура одного из представителей ряда — **гиббереллина A<sub>3</sub>**.

Действие гиббереллинов очень специфично — один и тот же продукт совершенно по-разному действует на различные растительные объекты.

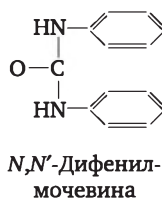
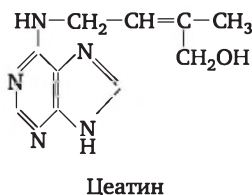
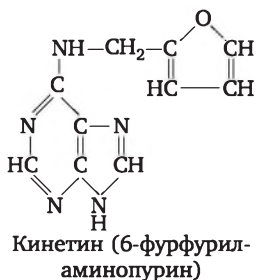
Гиббереллины успешно применяются для ускорения прорастания ячменя при изготовлении солода, для повышения урожайности

бескосточковых сортов винограда и стимулирования цветения «растений длинного дня», культивируемых в северных регионах.

В отношении ячменя показано, что гиббереллины стимулируют синтез  $\alpha$ -амилазы и ряда других ферментов в прорастающем зерне, индуцируя, по-видимому, синтез на ДНК специфических информационных РНК.

Полагают, что в период цветения растения действие гиббереллинов связано с функцией светочувствительного белка **фитохрома**, содержащего мощную систему конъюгированных двойных связей.

Открыт ряд соединений, оказывающих сильное стимулирующее действие на деление растительных клеток. Эту группу стимуляторов роста называют **цитокининами**. К ним относится кинетин 6-фурфурил-аминопурин и целый ряд цитокинетинов, например найденный в незрелых семенах кукурузы **цеатин** и выделенная из кокосового «молока» **дифенилмочевина**.



Предполагают, что физиологическое действие цитокининов связано с процессом биосинтеза белка в клетке.

К числу регуляторов роста растений относится **этилен**. Действие его многофункционально: ускоряет созревание плодов, изменяет характер роста клеток проростков, вызывает опадение листьев и плодов.

В организмах этилен образуется из метионина:



Этот метаболит стимулирует синтез РНК и белков, в том числе ферментов.

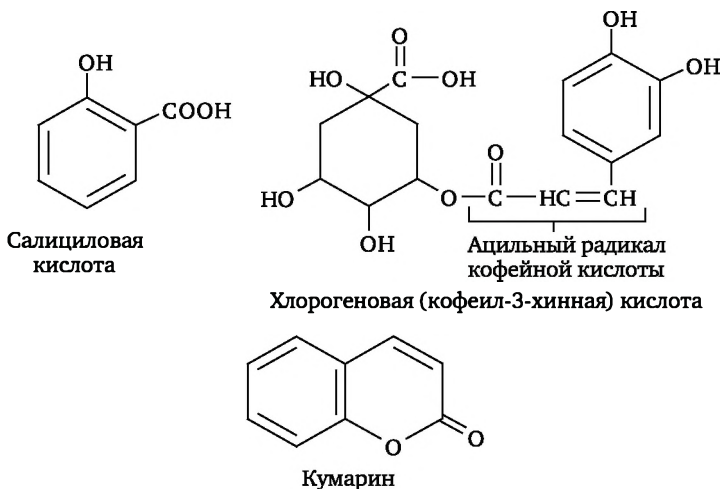
Имеются соединения, оказывающие стимулирующее действие на рост и размножение дрожжей. Так, из дрожжей выделено вещество, названное «**биос**», оказывающее весьма интенсивное стимулирующее действие на жизнедеятельность микроорганизмов.

Наиболее активная часть биоса — **биотин**, менее активны **инозит** и **витамин В<sub>1</sub>**. Весьма эффективное влияние на рост дрожжей оказывает β-аланин, а **глутамин** необходим в ничтожных количествах для жизнедеятельности болезнетворных микробов — гемолитических **стрептококков**. Таким же образом пара-аминобензойная кислота служит стимулятором роста многих бактерий.

В растениях обнаружен ряд соединений, задерживающих их развитие и названных **природными ингибиторами** роста. Представителем этой группы является сесквитерпеноид **абсцизовая кислота** (см. п. 12.2).

Абсцизовая кислота синтезируется, как и все терпеноиды, из мевалоновой кислоты, и ее физиологическая роль заключается в том, что она ингибирует синтез РНК и ДНК.

Известен обширный ряд **фенольных ингибиторов**: салициловая, хлорогеновая, коричная, кофейная кислоты, кумарин и др.



Предшественником многих из этих соединений в биосинтезе является **шикимовая кислота**.

Природные ингибиторы, по-видимому, взаимодействуют с гетероауксином и его аналогами, а также с гиббереллинами, оказывая на них дезактивирующее действие.

В растительном мире распространено явление, именуемое **аллелопатией**, суть которого заключается в том, что в экосистемах высшие растения конкурируют между собой в борьбе за влагу, свет

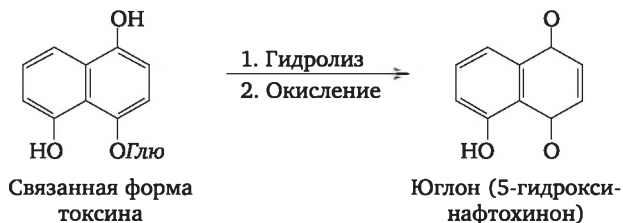
и питательные вещества с использованием химических средств взаимодействия. В более широком смысле аллелопатия (как явление и научная проблема) охватывает круговорот продуцируемых растениями биологически активных химических веществ в биоэкосистеме.

Корневые системы растений выделяют органические и минеральные вещества, и эти выделения могут существенно влиять на биологию почвы.

Установлено, например, что на поле после сахарной свеклы плохо растет кукуруза, яровые зерновые не переносят в качестве предшественника льна, а после овса падает всхожесть пшеницы. В то же время урожайность овса существенно снижается растущим на поле чертополохом. Общеизвестно, что сорные травы оказывают фитотоксическое действие на многие культурные растения.

Нижние пласты грунта из-под винограда содержат гниль старых корней, оказывающую отравляющее действие на новые саженцы. Замечено также, что бобовые растения, погруженные в воду, содержащую выделения корней других индивидуумов того же вида, увядали и погибали. Вместе с тем, фасоль благоприятствует росту картофеля и кукурузы, а томаты — росту земляники.

Химические вещества, ответственные за **аллелопатическое** воздействие одних растений на другие, во многих случаях идентифицированы. Так, токсическое действие черного **ореха** на растущие поблизости яблони, томаты, люцерну и другие растения обусловлено выделениями корней, ветвей и листьев, действующим началом которых является 4-глюкозид 1,4,5-тригидроксинафталина. При гидролизе последнего образуется высокотоксичный для растений 5-гидроксинафтохинон (юглон).



Юглон локализуется в зеленых частях растений ореха. В отмершей растительной ткани и в зрелых орехах он исчезает. Юглон представляет собой водорастворимый желтый пигмент и коричневое окрашивание рук при чистке орехов в значительной степени обусловлено выделением этого соединения.

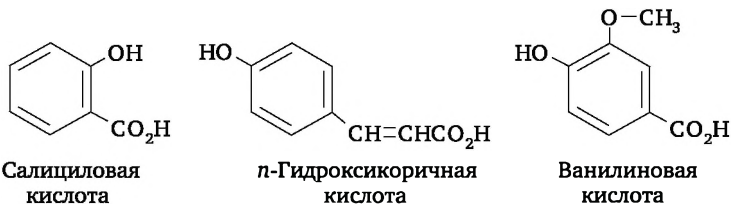
Судя по структуре, можно заключить, что 4-глюкозид-1,4,5-тригидроксинафталин является эффективным, легко окисляющимся **антиоксидантом**.



В качестве **ингибиторов** роста растений в сообществах пустынных кустарников идентифицированы сравнительно простые производные бензола: ацетофенон, 3-ацетил-6-метоксибензальдегид и *транс*-коричная кислота.

Установлено ингибирующее влияние кустарников на окружающие травы, обусловленное действием **терпеновых** токсинов (камфоры, камфена,  $\alpha$ -пинена и др.).

В других случаях за аллелопатическое действие ответственны водорастворимые токсины, относящиеся к группе карбоновых кислот фенольного ряда:



Корни бобовых и масличных культур выделяют **фосфорную** кислоту и другие минеральные вещества. И как результат — для этих растений характерны кислая среда клеточного сока и накопление в нем белков и жиров. В то же время, злаки, корнеплоды и овощные растения не выделяют фосфорную кислоту, что коррелируется с нейтральной реакцией клеточного сока и накоплением в нем углеводов.

В грунте под подсолнечником и молочаем накапливается **хлорогеновая** кислота, а под люцерной — **сапонин**.

Отмечается, что распашка почвы вместо выжигания злаковой стерни приводит к выходу в почву в результате разрушения клеточных клеток значительных количеств соединений фенольного типа. В подобной ситуации важным фактором является природа микробальной флоры и ее способность к детоксикации фенолов.

Выделения органических и минеральных веществ происходят также через листья, и под влиянием атмосферных осадков они попадают в почву.

Аллелопатические взаимодействия следует учитывать при планировании **севооборота**, поскольку им обязаны своим происхождением многие практические проблемы сельского хозяйства, в частности садоводства.

### 13.5. Фитонциды. Фитотоксины

Проблема устойчивости растений к заболеваниям или микробной инвазии (вторжения, захвата) постоянно привлекает внимание

биохимиков, физиологов и агрономов. Расширяется практика выведения болезнеустойчивых сортов сельскохозяйственных растений путем введения в исходный сорт генетического материала из невосприимчивых к болезням диких родственных форм. Создан обширный арсенал химических средств защиты урожая (см. Мельников Н. Н. Химия и технология пестицидов. М. : Химия, 1974. 768 с.). Однако эта тема чрезвычайно обширна и требует специального рассмотрения.

В настоящем параграфе мы ограничимся лишь кратким обзором некоторых естественных, т. е. наработанных природой в ходе эволюции биохимических средств и механизмов, обеспечивающих устойчивость растений к заболеваниям.

Многие растения содержат химические вещества вторичного метаболизма, поражающие бактерии. Такие вещества называют **фитонцидами**. При более детальном рассмотрении факторов устойчивости высших растений к болезням различают два класса соединений, обладающих фитонцидными свойствами: **преинфекционные** и **постинфекционные** метаболиты. В свою очередь, каждый из этих классов подразделяют на две группы.

**Первая группа преинфекционных защитных веществ, или прогибитины** (от англ. *Prohibit* — запрещать), существуют в растениях в готовом виде и создают барьер для разрушительного действия патогенных микроорганизмов (рис. 13.1). Еще один ряд метаболитов этой группы составляют **ингибитины** — вещества, которые присутствуют в растениях в недостаточном количестве и для проявления высокой эффективности нуждаются после инвазии микроорганизмов в наращивании концентрации.

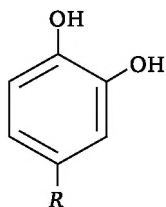
**Вторая группа — группа постинфекционных метаболитов** — разделяется на **постингибитины** и **фитоалексины** (от «*фитос*» — растение; «*алексос*» — отражать).

Постингибитины присутствуют в тканях в химически связанном состоянии, например в виде гликозидов, и сами по себе фитонцидной активностью не обладают. Однако после инвазии микробов они трансформируются в токсичные для них вещества в результате гидролиза или окисления (рис. 13.2).

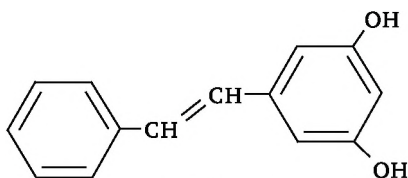
Наконец, фитоалексины синтезируются в клетках *de novo* в ответ на бактериальное поражение (рис. 13.3). В этом случае патогенные микроорганизмы по сути индуцируют новый биосинтез, как полагают, путем депрессии гена или активирования латентной ферментной системы.

В дополнение следует назвать еще одну группу метаболитов, которые в отличие от соединений первых двух групп продуцируются не растениями, а патогенными **микроорганизмами**, поразившими растительные клетки. Такого рода вещества, именуемые **фитоток-**

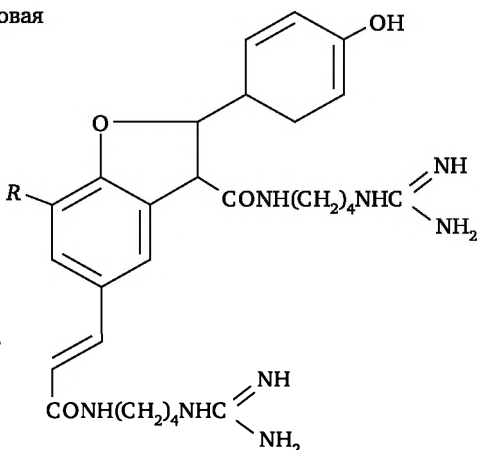
**синами**, вызывают заболевание растения-хозяина и в конечном итоге могут привести его к гибели.



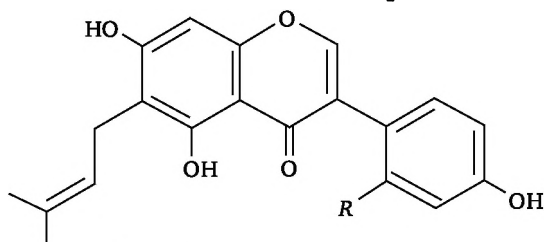
$R = H$  — катехол;  
 $R = CO_2H$  — протокатеховая  
 кислота (луковицы  
 лука *Allium cepa*)



Пиносильвин  
 (сердцевина *Pinus*)



$R = H$  — хордатин А;  
 $R = OCH_3$  — хордатин В  
 (проростки ячменя  
*Hordeum vulgare*)



$R = OH$  — лютеон;  
 $R = H$  — 2'-дезоксилутеон  
 (листья люпина *Lupinus spp.*)

Рис. 13.1. Структуры некоторых преинфекционных веществ растений

Большое множество различного рода вторичных продуктов, в том числе и преинфекционного типа, депонируется в сердцевине стволов деревьев, что, по-видимому, обеспечивает сравнительно высокую устойчивость древесины к разложению в естественных условиях.

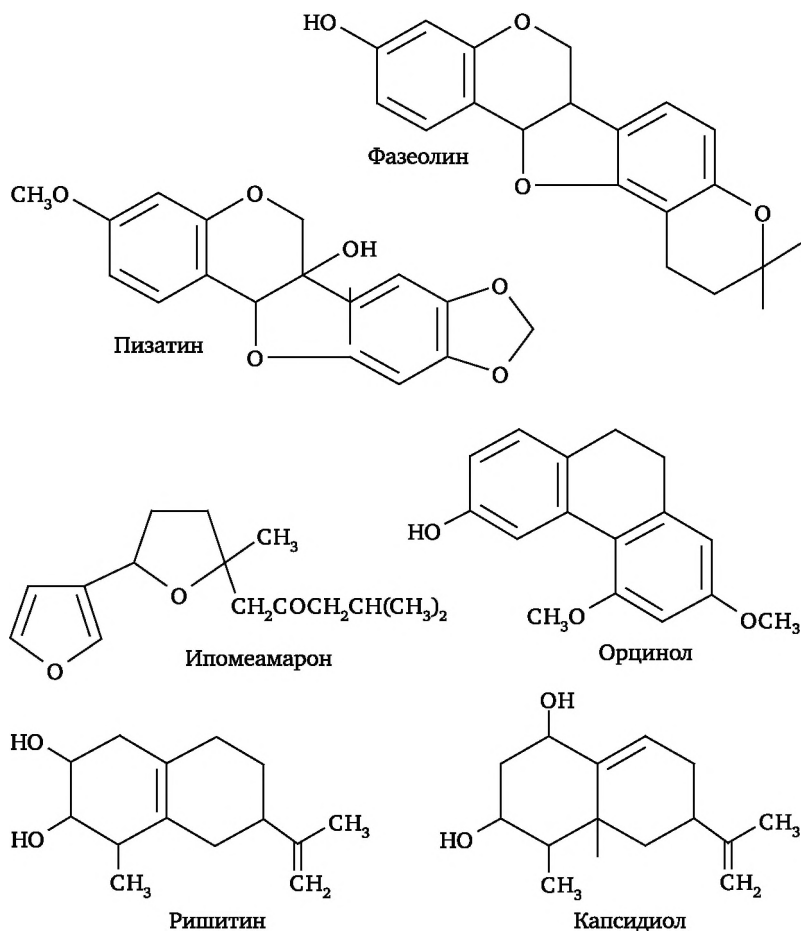
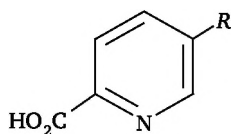


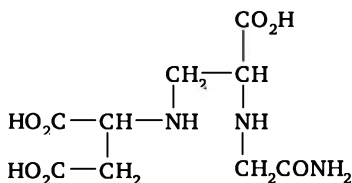
Рис. 13.2. Структура некоторых фитоалексинов высших растений

Эфирные масла (розовое, лавандовое, жасминовое, шалфейное и др.), относящиеся к классу изопреноидов, обладают фитонцидными и бактерицидными свойствами и выполняют в ряде случаев роль аттрактантов для насекомых, опыляющих растения. Антисептическими свойствами обладают **ментол**, имеющийся в составе мятного эфирного масла, и **карвон**, обнаруживаемый в тминном и укропном маслах.

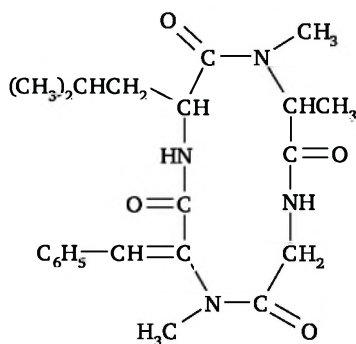
Ряд растений выделяют газообразные вещества, обладающие фитонцидным действием. Например, листья желтой акации, дуба, ольхи, смородины и других растений выделяют 2-гексеналь, который в малых концентрациях убивает микрофлору.



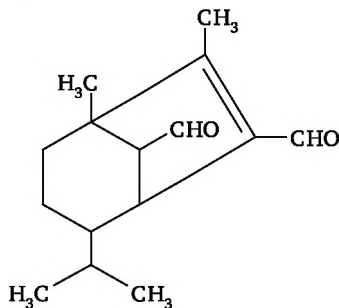
Пиколиновая кислота  $R = H$ ;  
Фузариновая кислота  $R = n$ -бутил



Ликопаразин



Тентоксин

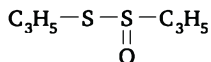


Гельминтоспараль

Рис. 13.3. Характерные низкомолекулярные фитотоксины,  
продуцируемые патогенами-грибами

### 13.5.1. Преинфекционные фитонциды

Активные антибактериальные вещества содержатся в **луке** и **чесноке**. Пары и экстракты этих растений убивают дифтерийную палочку, гноеродных и холерных бактерий. Если пожевать в течение нескольких минут чеснок, то бактерии, содержащиеся в полости рта, погибают. Чеснок содержит антибиотик **аллицин** — маслянистую жидкость, не растворимую в воде, но растворяющуюся в спирте и эфире. Аллицин подавляет бактерии уже в концентрации 1:250 000 и имеет строение



Аллицин легко разрушается при хранении содержащих его препаратов, что вполне объяснимо с позиций химической структуры. Наличие в молекуле двухвалентной серы и связи S—S сообщает веществу свойства сильного восстановителя, легко подвергающегося окислению.

Аллицин образуется в чесноке из аминокислоты, получившей название **аллиина**:



Запахом чеснока обладает именно аллицин.

Важное место среди преинфекционных метаболитов занимают терпеноиды и фенолы (см. рис. 13.1).

Среди веществ, обеспечивающих устойчивость растительных тканей к грибам, обнаруживаются **гидроксистильбены**. Один из них — **пиносильвин** — широко распространен у растений рода *Pinaceae*. Известно противодействие лука болезни **антракноз** (возбудитель — *Colletotrichum circinans*). Внешне отмершие чешуйки устойчивых сортов лука содержат значительные количества **протокатеховой кислоты** и **катехола** (см. рис. 13.1), которые токсичны для спор *C. circinas*. Причем присутствие этих метаболитов коррелируется с наличием в чешуйках антоцианов.

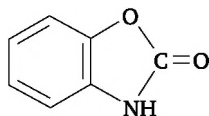
**Антоцианы** на основе цианидина (т. е. имеющие катехольное ядро) потенциально фунгитоксичны. Сам цианидин ингибирует прорастание гриба *Gloeosporium perennans*, вызывающего гниль яблок. Фунгитоксичное начало в бананах, устойчивых в *Gloeosporium musarum*, несет в себе 3,4-диоксибензальдегид. По-видимому, это же вещество, легко окисляющееся в протокатеховую кислоту, выступает в качестве ингибитора и в чешуйках лука.

Примерами фенольных соединений, проявляющих преинфекционные свойства, являются **лутеон** и родственные **изофлавоны**, найденные у многих видов рода *Lupinus*, а также **хордатины А и В**, выполняющие защитные функции у прорастающего ячменя (см. рис. 13.1). Интересно отметить, что по мере развития проростков хордатины дезактивируются в результате комплексообразования в тканях с катионами  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ .

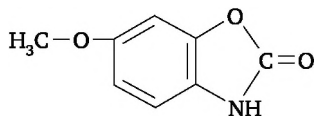
Известны также прогибитины нефенольного типа: гликозид **аве-нацин** и алкалоид **берберин** и др.

**Хлорогеновая кислота** (см. ниже) обеспечивает устойчивость картофеля к фитофтору (*Phytophthora infestans*), а устойчивость моркови к некоторым повреждающим ее грибам связана с наличием в ее тканях бензойной, оксибензойной, кофейной и хлорогеновой кислот.

Установлено, что **бензоксазолинон** предохраняет рожь от поражения снежной плесенью (грибом *Fusarium nivale*), а его производное — 6-метоксибензоксазолинон, найденный в растениях кукурузы и пшеницы, угнетает развитие ряда бактерий, грибов и насекомых, повреждающих эти растения:

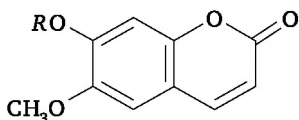


Бензоксазолинон

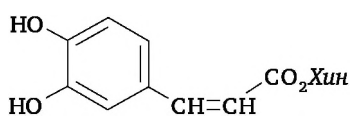


6-Метоксибензоксазолинон

В режиме преинфекционных ингибиторов функционируют **скополетин**, **скополин** и **хлорогеновая кислота**.



Скополетин —  $R = H$   
скополин —  $R = \text{Глю}$   
(Глю — остаток глюкозы)



Хлорогеновая кислота  
(Хин — остаток хинной кислоты)

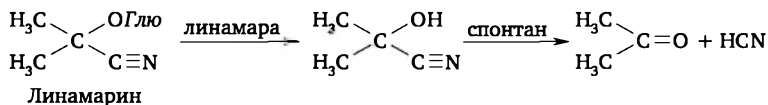
После заражения картофеля гнилью (*blight*) концентрация этих фенолов резко возрастала.

### 13.5.2. Постинфекционные вещества: постингибитины и фитоалексины

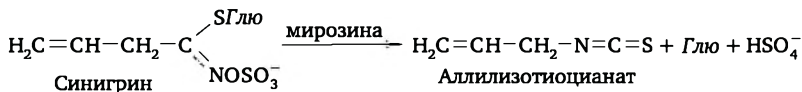
Ряд постингибиторов, т. е. фитонцидов, которые хранятся в тканях в неактивной химически связанной форме, показан на рис. 13.2. Простейшим примером таких токсинов являются **цианогенные гликозиды**. При гидролизе специфичной  $\beta$ -глюкозидазой образуют промежуточный цианогидрин, спонтанно распадающийся на HCN и альдегид (кетон). Именно синильная кислота защищает растение от заражения грибами.

Механизм освобождения некоторых фунгитоксинов путем гидролиза представляется следующим образом:

**Лядвенец рогатый:**

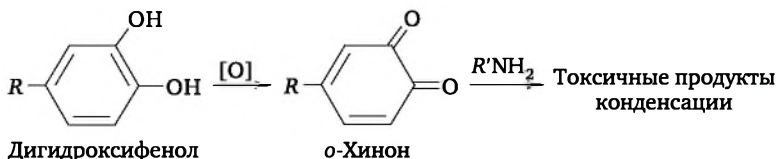


**Капуста:**



Подобно цианогенным гликозидам, **глюкозинолаты** *Cruciferae* обеспечивают устойчивость диких и культурных видов *Brassica* к ложной мучнистой росе. Образующийся при этом аллилазоцианат — один из компонентов, определяющих запах капусты, оказывается высокотоксичным для болезнетворного патогена.

Показано, что некоторые фенолы, известные как преинфекционные метаболиты, могут также функционировать как **постингибиторы**. Так, **дигидроксibenзолы**, образующиеся в результате гидролиза эфиров или глюкозидов, подвергаются окислению в *o*-хиноны, которые обеспечивают устойчивость отдельных сортов яблонь к различным грибным патогенам:



Одним из первых изученных **фитоалексинов**, образующихся в стручках бобового растения *Pisum sativum* в ответ на инвазию гриба коричневый гнили *Monilinia fructicola*, был **пизатин** (см. рис. 13.2).

Позже были выделены другие фитоалексины: **фазеоллин** (из бобовых), **ипомеамарон** (из зараженного сладкого картофеля), **орцинол** (из клубней орхидных).

Продуктом взаимодействия картофеля с гнилью (*blight*) является фитоалексин сесквитерпеноидного типа **ришитин** (см. рис. 13.2).

Простейшим фитоалексином является **бензойная кислота**, которая образуется при заражении яблони *Nectria galligena*.

Представленные на рис. 13.2 фитоалексины образуются шестью семействами растений. И хотя перечень этих метаболитов далеко не исчерпывающий, просматривается их большое структурное разнообразие. Здесь представлены изофлавоноиды (пизантин, фазеоллин), производные жирных и ароматических кислот, терпеноиды (ришитин, ипомеамарон). Но все они обладают одним общим свойством — хорошей растворимостью в липидах. Липофильность является необходимым требованием для проявления токсичности веществ, предназначенных блокировать мембраны грибковых клеток или влиять на их проницаемость.

Интересно отметить, что у паразитических грибов в процессе эволюции развиваются механизмы **детоксикации**, с помощью которых они дезактивируют антимикробные агенты. В частности, для этих целей ферменты патогена могут гидроксилировать ядра или деметилировать метоксильные группы. При этом понижается растворимость продуктов в липидах и повышается растворимость



в воде. Далее продукты реакции могут подвергаться окислительной деструкции.

Образование фитоалексинов может быть использовано для перекрестной защиты культурных растений от паразитов — фитоалексин растения-донора может подавлять заболеваемость растения-акцептора. Так, при опрыскивании томатов раствором фитоалексина перца — сесквитерпеноида капсидола (с концентрацией  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л) заболеваемость растения фитофторозом (возбудитель — *Phytophthora*) заметно снижалась.

### 13.5.3. Фитотоксины (патотоксины)

Как уже отмечалось, патогенный микроорганизм способен обитать в клетках растения и начать продуцировать собственные вторичные метаболиты — **фитотоксины**. Последние вызывают заболевание растения-хозяина и могут привести к его гибели.

К настоящему времени охарактеризовано большое число грибных и бактериальных патотоксинов. Некоторые из них представлены на рис. 13.3.

Низкомолекулярные патоксины влияют на рост или вызывают болезнь, называемую «вилт» (завядание). Высокомолекулярные вещества (чаще всего полипептидной природы) вызывают **некрозы** (отмирание) тканей растений. Они участвуют также в мацерации тканей, связанной с разъединением клеток и разрушением разделительных мембран. Так, токсины гриба *Ceratocystis ulmi* вызывают некротические поражения и увядание листьев ябл. Эти токсины заключают в себе два действующих начала: смесь гликопротеинов и набор низкомолекулярных фенольных метаболитов.

К симптомам действия токсинов относятся хлороз, нарушение роста, некроз. Хлороз, или деструкция хлоропластов и, как следствие, потеря зеленого цвета листа может быть вызван простым накоплением в тканях аммиака. А токсин возбудителя **рябухи табака** — бактерии *Pseudomonas tabaci* — представляет собой низкомолекулярный полипептид, который, вероятно, нарушает функционирование глутаминсинтетазы. Это ключевой фермент азотного обмена, и если его активность подавлена, то образующийся при восстановлении нитрата аммиак не может взаимодействовать с глутаминовой кислотой и накапливается в клетках в недопустимых количествах.

Ненормальности роста зачастую связаны с чрезмерным синтезом ростовых гормонов: гибберелинов, ауксина (индолилуксусной кислоты), цитокинина и др.

Заболевание **вилт** вызывается разнообразными бактериями, которые поражают томаты, горох, хлопчатник, бананы и другие растения. В культурах *Fusarium oxysporum*, поражающих томаты, обна-

ружены два токсина — полипептид **ликомаразмин** и производное пиридина — **фузариновая кислота** (см. рис. 13.3). Фузариновая кислота обнаружена также в пораженных патогенами хлопчатнике, банане и льне.

Основным токсином гриба *Fusicularia oryzae*, ведущим к заболеванию риса — **циркуляриозу**, — является **пиколиновая кислота** (см. рис. 13.3). Подобно фузариновой кислоте, она способна образовывать хелатные комплексы с металлами. В случае циркуляриоза риса ее токсическое действие обусловлено связыванием ионов железа и меди, жизненно необходимых для тканей растения. Пиколиновая кислота обезвреживается растением-хозяином, путем превращения ее в метиловый спирт.

Среди фитотоксинов обнаруживаются фенолы, ряд циклических пептидов (например, **тентоксин**), некоторые терпеноиды (**гельминтоспораль**), **хиноны**, **эпоксиянтаная кислота**.

Известны макромолекулярные токсины, которые, как правило, активны при низких концентрациях. Механизм их действия связан, по-видимому, с нарушением клеточной проницаемости.

Патогенные микроорганизмы продуцируют ферменты, способствующие **мацерации** (разобщению) клеток и разрушению клеточных стенок. Подобные эффекты наблюдаются в гниющих плодах и овощах. В этом процессе участвуют такие ферменты, как целлюлазы, гемицеллюлазы, пектинэстеразы и др. Ферменты патогенных грибов обладают высокой активностью и начинают функционировать сразу же после заражения растения-хозяина.

Весьма перспективным представляется использование в качестве фунгицидных агентов синтетических аналогов ингибитинов и фитоалексинов, которые были бы более устойчивы к биodeградации, чем природные молекулы.

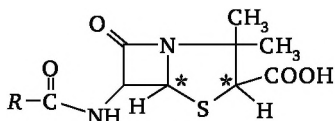
## 13.6. Антибиотики

**Антибиотики** — это соединения, вырабатываемые микроорганизмами и способные подавлять развитие других микроорганизмов. Поэтому они широко используются для лечения многих инфекционных заболеваний. Для человека и животных токсичность антибиотиков невелика.

В настоящее время ассортимент антибиотиков и, следовательно, спектр их бактерицидного действия значительно расширен за счет полусинтетических препаратов, получаемых химической модификацией антибиотиков микробиального происхождения.

Первые из антибиотиков — **пенициллины** — получены в 1940-х гг., и это открыло новую эпоху в борьбе человека с инфекционными болезнями.

Основу пенициллинов составляет ядро **тиазолидина** (тетрагидротиазола):



В зависимости от природы радикала **R** различают пенициллины:

**F** ( $R = -CH_2CH=CHC_2H_5$ )

**G** ( $R = -CH_2-C_6H_5$ )

**K** ( $R = -CH_2(CH_2)_5CH_3$ )

**X** ( $R = -CH_2C_6H_4-OH$ ) и др.

Идея об использовании одних микроорганизмов для борьбы с другими была выдвинута в свое время И. И. Мечниковым, предложившим использовать молочнокислые бактерии для борьбы с гнилостной микрофлорой кишечника.

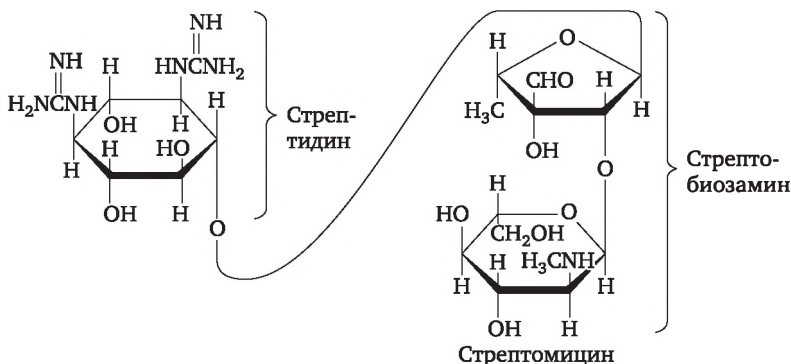
Антибиотики обладают исключительно мощным и специфическим антибактериальным действием, значительно превосходящим действие различных сульфамидных препаратов (стрептоцида, сульфидина и др.).

Действие пенициллина на микроорганизмы связано с нарушением процесса образования клеточной стенки.

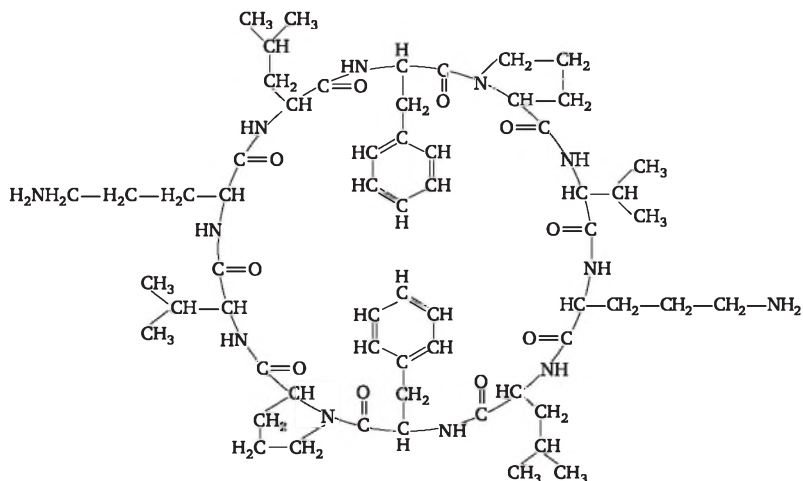
Широкое применение пенициллина привело к появлению в природе устойчивых к его действию штаммов микроорганизмов. Оказалось, что эти штаммы продуцируют фермент пенициллиназу (3.5.2.6), который лишает молекулу пенициллина активности.

Однако путем введения в молекулу пенициллина различных химических группировок были получены его производные, которые не расщеплялись пенициллиназой, но обладали антибиотической активностью.

Живущий в почве лучистый грибок *Actinomyces globisporus streptomycet* образует антибиотик **стрептомицин**, применяемый для лечения различных форм туберкулеза.



Для профилактики и лечения нагноительных процессов используется антибиотик **граммицин**, продуцируемый живущей в почве бактерией *Bacillus brevis*. Грамицидин представляет собой циклический полипептид, включающий звено не найденного в природе D-изомера фенилаланина:



Кроме указанных двух антибиотиков циклическую полипептидную структуру имеет антибиотик **тироцидин**.

Циклическую структуру имеет и группа антибиотиков — **макролидов**, продуцируемых некоторыми актиномицетами. В основе их строения лежит макроциклический лактон (макролид). Широкое применение в медицине нашел представитель этой группы антибиотиков — **эритромицин**:

Как видно, в эритромицине лактонное кольцо I связано с фрагментами двух производных сахаров — дезозамина(II) и кладинозы(III).

В культуре актиномицета *Actinomycs venezuelae* образуется антибиотик **левомицетин** (хлорамфеникол, хлоромецетин), проявивший себя как эффективное средство в борьбе с инфекционными заболеваниями, вызываемыми некоторыми вирусами и грамотрицательными микробами (например, сыпным и брюшным тифом):



В клетках патогенных микроорганизмов левомицетин подавляет синтез белка. В настоящее время левомицетин получают синтетическим путем.

Широкое распространение в медицинской практике, в частности в ветеринарии, получила группа антибиотиков **тетрациклинов**: тетрациклин, хлортетрациклин (ауреомицин, биомицин) и окситетрациклин (террамицин). В основе этой группы антибиотиков — тетрациклин (см. выше).

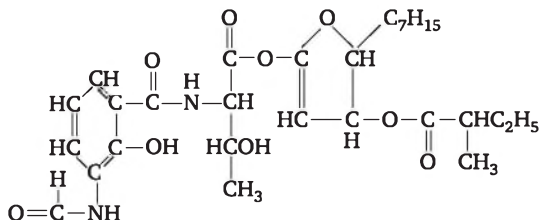
Тетрациклины действуют как на грамположительные, так и на грамотрицательные бактерии.

Среди антибиотиков, нарушающих обмен нуклеиновых кислот, имеется **актиномицин D**:



Актиномицин обладает высокой токсичностью, что ограничивает его применение для лечения злокачественных опухолей. Подобной биологической активностью обладает **митомицин С**.

Из некоторых видов актиномицетов выделена группа веществ, объединенная общим названием **антимицин**.



Это чрезвычайно активный антибиотик против грибов. Даже при разбавлении 1:50 000 000 он полностью угнетает рост патогенов, поражающих лук, рис, горох, виноград и другие культуры.

Остановлено, что антимицин является мощным и специфическим ингибитором ферментативных систем, контролирующих поглощение кислорода. Это его свойство используется в биохимии в тех случаях, когда необходимо подавлять процесс дыхания или окисления каких-либо вещества кислородом воздуха.

Открыто значительное число антибиотиков, образуемых актиномицетами. Важной задачей является их исследование с целью использования в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве и для предохранения от порчи различных пищевых продуктов и кормов.

В настоящее время ассортимент антибиотиков и, следовательно, спектр их бактерицидного действия значительно расширен за счет полусинтетических препаратов, получаемых химической модификацией антибиотиков микробияльного происхождения.

### Вопросы и задания для самоконтроля

1. Какие классы веществ вторичного происхождения образуются и включаются в обмен в растениях?
2. Приведите примеры применения биологически активных веществ из этого ряда.
3. В чем сущность явления аллелопатии?
4. Покажите биологическую роль в растениях гликозидов, фитонцидов, фитотоксинов и антибиотиков.

## Литература

### Основная

1. Бородин, А. П. Биохимия животных : учебное пособие / А. П. Бородин. — Санкт-Петербург : Лань, 2015. — 384 с.
2. Бурьян, Н. И. Микробиология виноделия / Н. И. Бурьян. — Ялта : Таврия, 2002. — 431 с.
3. Горбатова К. К. Биохимия молока и молочных продуктов : учебник / К. К. Горбатова. — Санкт-Петербург : Гиорд, 2015. — 336 с.
4. Гудман, М. Органические молекулы в действии / М. Гудман, Ф. Морхауз. — Москва : Мир, 1977. — 335 с.
5. Комов, В. П. Биохимия : в 2 ч. Часть 1 : учебник для академического бакалавриата / В. П. Комов, В. Н. Шведова ; под общей редакцией В. П. Комова. — 4-е изд., испр. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2019. — 333 с.
6. Комов, В. П. Биохимия : в 2 ч. Часть 2 : учебник для академического бакалавриата / В. П. Комов, В. Н. Шведова ; под общей редакцией В. П. Комова. — 4-е изд., испр. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2019. — 315 с.
7. Новиков, Н. Н. Биохимия растений / Н. Н. Новиков. — Москва : Ленанд, 2014. — 680 с.
8. Рогожин В. В. Биохимия сельскохозяйственной продукции : учебник / В. В. Рогожин. — Санкт-Петербург : ГИОРД, 2014. — 544 с.
9. Рогожин, В. В. Биохимия растений : учебник / В. В. Рогожин. — Санкт-Петербург : ГИОРД, 2012. — 432 с.
10. Рогожин, В. В. Биохимия молока и мяса : учебник / В. В. Рогожин. — Санкт-Петербург : ГИОРД, 2012. — 456 с.
11. Родопуло, А. К. Основы биохимии виноделия / А. К. Родопуло. — Москва : Легкая и пищевая промышленность, 1983. — 239 с.
12. Харборн, Дж. Б. Введение в экологическую биохимию / Дж. Б. Харборн ; под ред. Б. М. Граевской. — Москва : Мир, 1985. — 311 с.

### Дополнительная

1. Биосфера. Мысли и наброски / под ред. К. А. Степанова // Сборник научных работ М. И. Вернадского. — Москва : Дом, Ноосфера, 2001. — 244 с.

2. Вернадский, В. И. Живое вещество / В. И. Вернадский. — Москва : Наука, 1978. — 388 с.
3. Дрюк, М. А. Философское осмысление некоторых естественно-научных данных о сущности живой материи и человека / М. А. Дрюк // Философские исследования. — 1998. — № 1. — С. 28—41.
4. Дрюк, М. А. Химическая теория резонанса и проблемы формирования философской рациональности нового типа / М. А. Дрюк. — Москва : Российский ун-т дружбы народов, 2003. — 181 с.
5. Кликс, Ф. Пробуждающееся мышление. У истоков человеческого интеллекта/ Ф. Кликс. — Москва : Прогресс, 1983. — 302 с.
6. Клягин, Н. В. Происхождение цивилизации / Н. В. Клягин. — Москва : Ин-т философии РАН, 1996. — 252 с.
7. Мартиндэйл, Л. Как это было на самом деле? / Л. Мартиндэйл, Г. Филатова. — Нью-Йорк : ЗАО «Издат. Дом Ридерз Дайджест», 2002. — 319 с.



**Новые издания по дисциплине  
«Биологическая химия»  
и смежным дисциплинам**

1. *Ершов, Ю. А.* Биохимия : учебник и практикум для академического бакалавриата / Ю. А. Ершов, Н. И. Зайцева ; под редакцией С. И. Щукина. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2019. — 323 с. — (Бакалавр. Академический курс).

2. *Ершов, Ю. А.* Биохимия человека : учебник для академического бакалавриата / Ю. А. Ершов. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2019. — 374 с. — (Бакалавр. Академический курс).

3. *Ершов, Ю. А.* Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов : в 2 кн. Книга 1 : учебник для вузов / Ю. А. Ершов, В. А. Попков, А. С. Берлянд. — 10-е изд., испр. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2019. — 215 с. — (Бакалавр. Академический курс).

4. *Ершов, Ю. А.* Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов : в 2 кн. Книга 2 : учебник для вузов / Ю. А. Ершов, В. А. Попков, А. С. Берлянд. — 10-е изд., испр. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2019. — 360 с. — (Бакалавр. Академический курс).

**Наши книги можно приобрести:**

**Учебным заведениям и библиотекам:**  
в отделе по работе с вузами  
тел.: (495) 744-00-12, e-mail: [vuz@urait.ru](mailto:vuz@urait.ru)

**Частным лицам:**  
список магазинов смотрите на сайте [urait.ru](http://urait.ru)  
в разделе «Частным лицам»

**Магазинам и корпоративным клиентам:**  
в отделе продаж  
тел.: (495) 744-00-12, e-mail: [sales@urait.ru](mailto:sales@urait.ru)

**Отзывы об издании присылайте в редакцию**  
e-mail: [gred@urait.ru](mailto:gred@urait.ru)

Новые издания и дополнительные материалы доступны  
на образовательной платформе «Юрайт» [urait.ru](http://urait.ru),  
а также в мобильном приложении «Юрайт.Библиотека»

*Учебное издание*

**Дрюк Валерий Григорьевич,  
Скляр Степан Иванович,  
Карцев Виктор Георгиевич**

## **БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**

Учебное пособие для вузов

Формат 70×100 1/16.  
Гарнитура «Charter». Печать цифровая.  
Усл. печ. л. 22,66

**ООО «Издательство Юрайт»**  
111123, г. Москва, ул. Плеханова, д. 4а.  
Тел.: (495) 744-00-12. E-mail: [izdat@urait.ru](mailto:izdat@urait.ru), [www.urait.ru](http://www.urait.ru)